Aus der Abteilung für Transfusionswesen
Direktor: Professor Dr. Werther Schneider
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen

HLA-ANTIGENFREQUENZEN BEI 80 INSULINPFLICHTIGEN DIABETIKERN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med. dent. Jörg-Elard Otten
aus
Bremen

1978

Aus der Abteilung für Transfusionswesen
Direktor: Professor Dr. Werther Schneider
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen

HLA-ANTIGENFREQUENZEN BEI 80 INSULINPFLICHTIGEN DIABETIKERN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med. dent. Jörg-Elard Otten
aus
Bremen

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E. Hoffmeister
Berichterstatter: Professor Dr. W. Schneider

FOTODRUCK H. RESCH · Georgstr. 50 · 7402 Kirchentellinsfurt

Für Tony

Für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas und die hilfreiche Anleitung zur Durchführung dieser Arbeit bin ich Herrn Professor Dr. med. W. Schneider zu großem Dank verpflichtet. Herrn Professor Dr. med. G. Winkler und Frau Dr. med. D. Möller danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung.

Mein Dank gilt ebenfalls den Mitarbeitern der Tübinger Blutzentrale, insbesondere Frau I. Späth und Frau R. Pietzcker.

Die Arbeiterwohlfahrt Südwürttemberg-Hohenzollern (Geschäftsführer W. Ulbert) hat durch ihre freundliche Erlaubnis, im Diabetikerheim Witthoh tätig sein zu dürfen, die vorliegende Untersuchung ermöglicht.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einführung	01
2.	Das HLA-System	03
2.1	Nomenklatur des HLA-Systems	03
2.2	Genetik des HLA-Systems	07
2.3	Die HLA-Genregion	11
2.4	Nachweis der HLA- (SD-) Antigene	14
2.5	Klinische Bedeutung des HLA-Systems	15
3.	HLA-System und Krankheiten	19
3.1	Allgemeiner Überblick	19
3.2	Diabetes mellitus und HLA-System	22
3.2.1	Definition und Einteilung des Diabetes mellitus	25
3.2.2	Ätiologie und Pathogenese des Diabetes mellitus	26
3.2.3	Untersuchungen zur Assoziation des Diabetes mellitus mit bestimmten HLA-Antigenen	30
4.	Zusammenfassung der Literatur	45
5.	Fragestellung	47
6.	Eigene Untersuchungen	48
6.1	Material und Methodik	48
6.1.1	Patientengut	48
6.1.2	Anamnestische und klinische Daten	48
6.1.3	Blutgruppenbestimmung	49
6.1.4	HLA-Typisierung	49
6.1.5	Vergleichskollektiv	54
6.2	Statistik	55
6.3	Ergebnisse	57
6.3.1	Patientengut	57
6.3.2	HLA-Antigengrequenzen	60
6.3.3	HLA-Antigenfrequenzen ausgewählter Gruppen	63
7.	Diskussion	72

Seite

7.1 Betrachtung einzelner HLA-Antigen-Frequenzen 72
7.1.1 HLA-B8, B15, Cw3 und B7 72
7.1.2 HLA-Cw5 und HLA-B18 74
7.2 HLA-System und Diabetes mellitus 78

8. Zusammenfassung 83

9. Literaturverzeichnis 84

1. Einführung

Im Jahre 1958 wurde das HLA-System von J. Dausset als leukocytäres Blutgruppensystem entdeckt (35). Der Begriff "HLA-System" leitet sich her von "Human Leukocyte Antigen system" oder "Human Leukocyte, locus A" ("HL-A" in der bis 1975 gültigen Nomenklatur). Der Hinweis auf ein solches System ergab sich aus dem Nachweis von Leukocytenagglutininen bei Patienten, die mehrere Bluttransfusionen erhalten hatten (34). Das erste definierte leukocytäre Isoantigen wurde bei Dausset als "Mac" (heute HLA-A2 + A28) bezeichnet. In der Folgezeit wurden zahlreiche weitere Antigene gefunden, die nicht nur an Leukocyten, sondern auch an den meisten menschlichen Zellen, einschließlich epidermaler Zellen und Erythrocyten, identisch nachweisbar waren. Durch Familienuntersuchungen stellte sich heraus, daß diese Antigene zu einem einzigen komplexen genetischen System gehören. Der Erforschung des Vererbungsmodus und der chromosomalen Lokalisation der HLA-Genorte galten die intensiven Bemühungen verschiedener Arbeitsgruppen; Namen wie Ceppelini, van Rood und Terasaki sind hier zu nennen.

In den Mittelpunkt des Interesses rückte das HLA-System, als es als das Hauptkompatibilitätssystem (MHS = major histocompatibility system) des Menschen erkannt wurde: 1969 zeigten Ceppelini et al. (24) sowie Amos et al. (5), daß Hauttransplantate zwischen HLA-identischen Geschwistern länger erhalten blieben als Transplantate auf HLA-differente Geschwister. Seither erlangte das HLA-System in verschiedenen Bereichen der klinischen Medizin zunehmende Bedeutung: Für Nieren- und Knochenmarktransplantationen wurden die Erfolgschancen durch die Berücksichtigung der HLA-Antigene von Organspendern und -empfängern entscheidend verbessert. In der Transfusionsmedizin ist die HLA-kompatible Transfusion von Blut oder Blutbestandteilen immer bedeutsamer geworden und in der Geburtshilfe

werden Zusammenhänge zwischen der Abortenrate und einer Sensibilisierung im HLA-System diskutiert.

Die Beobachtung daß bei verschiedenen Erkrankungen bestimmte HLA-Antigene häufiger nachgewiesen wurden als bei gesunden Vergleichspersonen, führte in den letzten Jahren zu umfangreichen Studien über eine mögliche Assoziation zwischen dem HLA-System und speziellen Erkrankungen. 1973 wurde das gehäufte Auftreten des Antigens HLA-B27 bei der Spondylitis ankylopoetica (Morbus Bechterew) beschrieben (94) - bis heute die engste und einzig diagnostisch verwertbare Assoziation zwischen einem HLA-Antigen und einer Erkrankung. Zahlreiche weitere Krankheiten wurden auf ihre Beziehung zum HLA-System untersucht; signifikante Unterschiede der HLA-Antigenfrequenzen waren in vielen Fällen nachweisbar (siehe Tabelle 3). Durch die Erkennung von Zusammenhängen, die möglicherweise zwischen einem HLA-Antigen und bisher für den Menschen hypothetischen sogenannten Krankheitsempfänglichkeitsgenen (DS-genes = disease ausceptibility genes) oder Immunantwortgenen (Ir-genes = immune response genes) bestehen könnten, erhoffte man sich genauere Vorstellungen von Ätiologie und Pathogenese einzelner Erkrankungen. Seit 1972 wurden entsprechende Untersuchungen beim Diabetes mellitus durchgeführt (siehe Tabelle 4).

2. Das HLA-System

2.1 Nomenklatur des HLA-Systems

Die Entdeckung der einzelnen HLA-Antigene durch verschiedene Untersucher brachte eine uneinheitliche Nomenklatur mit sich. Das Antigen HLA-A2 hatte beispielsweise je nach Autor die folgenden Benennungen (114): 1 (Amos), 5 (Bachelor), To-9 (Ceppelini), Mac (Dausset), LA2 (Kissmeyer-Nielsen und Payne/Bodmer), 8a (van Rood), 2 (Terasaki), Lc-2 (Walford). Mit Unterstützung der WHO wurde 1968 die erste einheitliche Terminologie erarbeitet (114). Die Antigene wurden einem Vorschlag von Amos zufolge (4) mit "HL-A" und einer Ziffer bezeichnet (z. B. HL-A2). Die Erweiterung der Kenntnis über die Genetik des HLA-Systems und die wachsende Zahl der definierbaren Antigene führten 1975 zu einem neuen Nomenklaturvorschlag (115). Zur Kennzeichnung des Systems wurde jetzt die Bezeichnung "HLA" empfohlen. Die drei nebeneinander vererbten Serien der mit serologischen Methoden erfaßbaren Antigene wurden mit den Buchstaben A, B und C benannt, das einzelne Antigen mit einer Ziffer (z. B. HLA-A2). Die in einer weiteren Serie vererbten Antigene, die durch ihr Verhalten in der gemischten Lymphocytenkultur definiert sind, wurden mit dem Buchstaben D und einer Ziffer benannt. Bei noch nicht genau definierten Antigenen wurde der Buchstabe w (für "workshop") eingefügt (z. B. HLA-Bw35).

Die 1975 vorgeschlagene Nomenklatur wurde im September 1977 erneut überarbeitet (52). Dabei wurden zahlreiche neue Spezifitäten bzw. Unterteilungen bekannter Spezifitäten in die Liste der anerkannten HLA-Antigene aufgenommen. Bei einzelnen HLA-Antigenen konnte die Bezeichnung "w" entfallen, da sie jetzt genügend sicher definiert schienen. In Tabelle 1 wurden die derzeit anerkannten HLA-Spezifitäten mit ihrer gültigen Benennung dargestellt.

Einige zunächst einheitlich erscheinende Spezifitäten konnten im Laufe der Zeit noch genauer unterteilt werden: HLA-A9 (HLA-Aw23, HLA-Aw24), HLA-A10 (HLA-A25, HLA-A26), HLA-Aw19 (HLA-A29, HLA-Aw30, HLA-Aw31, HLA-Aw32, HLA-Aw33), HLA-B5 (HLA-Bw51, HLA-Bw52), HLA-B12 (HLA-Bw44, HLA-Bw45), HLA-Bw21, (HLA-Bw49, HLA-Bw50), HLA-Bw16 (HLA-Bw38, HLA-Bw39).

Tabelle 1: Anerkannte HLA-Spezifitäten und ihre Benennungen (52)

HLA-A		HLA-B	
NEW	PREVIOUS	NEW	PREVIOUS
HLA-A1		HLA-B5	
HLA-A2		HLA-B7	
HLA-A3		HLA-B8	
HLA-A9		HLA-B12	
HLA-A10		HLA-B13	
HLA-A11		HLA-B14	
HLA-Aw19		HLA-B15	Bw15
HLA-Aw23	(A9)	HLA-Bw16	
HLA-Aw24	(A9)	HLA-B17	Bw17
HLA-A25	Aw25 (A10)	HLA-B18	
HLA-A26	Aw26 (A10)	HLA-Bw21	
HLA-A26	Aw16 (A10)	HLA-Bw21	
HLA-A28		HLA-Bw22	
HLA-A29		HLA-B27	
HLA-Aw30		HLA-Bw35	W5
HLA-Aw31	(Aw19)	HLA-B37	Bw37
HLA-Aw32		HLA-Bw38	W16.1 (Bw16)
HLA-Aw33		HLA-Bw39	W16.2 (Bw16)
HLA-Aw34	MALAY 2	HLA-B40	Bw40, W10
HLA-Aw36	MO*	HLA-Bw41	Sabell
HLA-Aw43	BK	HLA-Bw42	MWA
		HLA-Bw44	B12nonTT* (B12)
		HLA-Bw45	TT* (B12)
		HLA-Bw46	HS, SIN2
		HLA-Bw47	407*, M066, CAS, Bw40C
		HLA-Bw48	KSO? JA, Bw40.3
		HLA-Bw49	Bw21.1, SL-ET (Bw21)
		HLA-Bw50	Bw21.2, ET* (Bw21)
		HLA-Bw51	B5.1 (B5)
		HLA-Bw52	B5.2 (B5)
		HLA-Bw53	HR
		HLA-Bw54	Bw22J, SAP1, J1
		HLA-Bw4	W4 4a
		HLA-Bw6	W6 4b

HLA-C		HLA-D (LD)	
NEW	PREVIOUS	NEW	PREVIOUS
HLA-Cw1		HLA-Dw1	
HLA-Cw2		HLA-Dw2	
HLA-Cw3		HLA-Dw3	
HLA-Cw4		HLA-Dw4	
HLA-Cw5		HLA-Dw5	
HLA-Cw6	T7	HLA-Dw6	
		HLA-Dw7	LD107
		HLA-Dw8	LD108
		HLA-Dw9	TB9, OH
		HLA-Dw10	LD16
		HLA-Dw11	LD17

2.2 Die Genetik des HLA-Systems

Die serologisch definierbaren (SD-) Antigene des klassischen HLA-Systems werden von Genen kodiert, die auf dem Chromosom C 6 lokalisiert werden. Die HLA-Merkmale werden in drei getrennten Serien kodominant vererbt. Diese Serien werden von drei enggekoppelten Genorten (Loci) gesteuert, nämlich den Loci HLA-A (früher LA), HLA-B (früher Four) und HLA-C (früher AJ). Für jeden der Loci liegt eine multiple Allelie vor. Die Allele eines Locus schließen sich gegenseitig aus, d. h. auf jedem Locus kann jeweils nur ein Allel ein Antigen determinieren. Für den HLA-A oder auch 1. Locus sind derzeit 20 Allele bekannt, für den 2. Locus (HLA-B) 33 und für den 3. Locus (HLA-C) 6 Allele. (siehe Tabelle 1). Die einzelnen Allele bzw. Antigene werden mit dem Buchstaben des Locus und einer Ziffer bezeichnet. Auf dem 1. und 2. Locus sind noch ungefähr je 1 %, auf dem 3. Locus noch ca. 50 % der Allele unbekannt ("X-Allele"). Die 3 HLA-Loci eines Chromosoms werden zusammen als Haplotyp bezeichnet. Menschliche Körperzellen sind diploid, haben also auch 2 HLA-Haplotypen, einen vom Vater und einen von der Mutter. Bei einer Person können somit 6 HLA-Antigene nachweisbar sein. Die Angabe beider HLA-Haplotypen eines Menschen entspricht seinem HLA-Genotyp.

Die HLA-Gene eines Haplotypus werden gemeinsam vererbt. Ein Kind erbt also einen Haplotyp des väterlichen und einen des mütterlichen Chromosomensatzes. Kinder derselben Eltern können in der Regel nur 4 verschiedene Haplotypkombinationen aufweisen. In 25 % der Fälle kann man erwarten, daß zwei Geschwister denselben HLA-Genotyp haben. Sicher HLA-identisch sind eineiige Zwillinge.

Durch Rekombination in der Meiose (crossing over) kann die genetische Information zwischen zwei Haplotypen in seltenen Fällen ausgetauscht werden. Das Kind erbt dann nicht einen von den Körperzellen eines Elternteiles be-

kannten Haplotypus, sondern einen neuen Haplotyp, der Gene beider väterlichen bzw. mütterlichen Chromosomen nebeneinander trägt. Damit entsteht ein nicht vorhersehbarer neuer HLA-Genotyp beim Kind. Die Häufigkeit solcher Rekombinationen wird mit 0,5 - 2 % angegeben. Zur besseren Veranschaulichung der oben aufgeführten Vererbungsmodi sollen die beiden folgenden Beispiele dienen (entnommen aus 104):

Beispiel 1: Erbgang der HLA-Antigene innerhalb einer Familie mit vier Kindern (ohne Berücksichtigung des C-Locus):

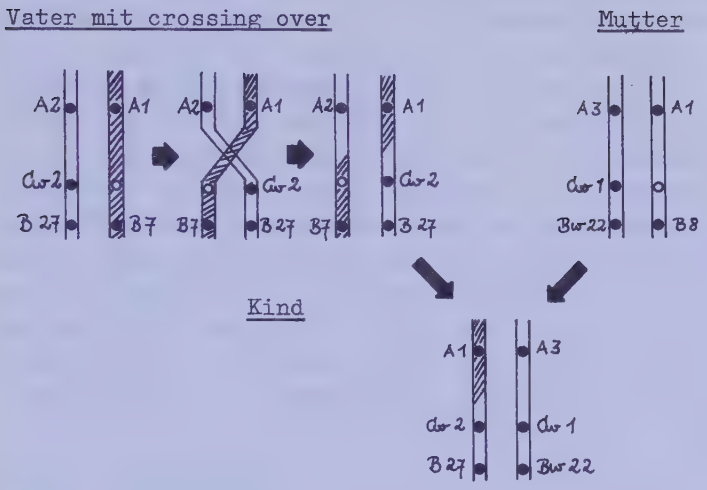
	Phänotyp 1.Locus/2.Locus	Genotyp 1.Haplotyp/2.Haplotyp	Genotyp abgek.
Vater	A 1, A3/B 7, B 8	A 1, B8/A 3, B 7	a / b
Mutter	A 2, A9/B 5, B 12	A 2, B5/A 9, B 12	c / c
1. Kind	A 1, A2/B 5, B 8	A 1, B8/A 2, B 5	a / c
2. Kind	A 1, A9/B 8, B 12	A 1, B8/A 9, B 12	a / d
3. Kind	A 2, A3/B 5, B 7	A 3, B7/A 2, B 5	b / c
4. Kind	A 2, A3/B 5, B 7	A 3, B7/A 2, B 5	b / c

Das 3. und 4. Kind dieser Familie sind HLA-identisch, der mögliche Genotyp A 3,B7/A 9, B 12 (b/d) ist nicht aufgetreten.

Beispiel 2: Rekombination im HLA-System (crossing over beim Vater):

	Phänotyp 1.Locus/2.Locus/3.Locus	Genotyp 1.Haplotyp/2.Haplotyp
Vater	A 1, A2/B 7, B 27/Cw2	A 1, B 7, Cw-/A2,B 27,Cw2
Mutter	A 1, A3/B 8, Bw22/Cw1	A 1, B 8, Cw-/A3,Bw22,Cw1
Kind	A 1, A3/Bw22, B 27/Cw1,Cw2	A 1, B29, Cw2/A3, Bw22,Cw1

Abb. 1 zu Beispiel 2:



Bei den bisher aufgeführten Beispielen sind alle Antigene heterozygot, d. h. die Allele eines Locus sind auf beiden Chromosomen unterschiedlich. Es kann aber auch vorkommen, daß die Allele beider Haplotypen, z. B. des 1. Locus, gleich sind: Es liegt dann eine Homozygotie vor. Phänotypisch ist auf dem betroffenen Locus nur ein Antigen nachzuweisen. Mit entsprechenden Antiseren reagiert dieses eine Antigen jedoch stärker als bei Heterozygotie üblich (gene dose effect). Dieses Kriterium ist allerdings nicht sicher. Die Wahrscheinlichkeit der Homozygotie ist abhängig von der Häufigkeit der einzelnen Antigene. Wird auf einem Locus nur ein Antigen gefunden, so könnte das 2. Allel auch ein "X-Allel", d. h. unbekannt sein.

Nach der bisher dargestellten genetischen Modellvorstellung müßte auf einem HLA-Haplotyp jedes Allel eines Locus mit jedem Allel eines anderen Locus gleich häufig zusammen vorkommen können - es bestünde ein Kopplungsgleichgewicht. Die Analyse der HLA-Haplotypen bei großen Kollekti-

ven zeigt jedoch, daß diese zufallsbedingte freie Kombinierbarkeit der Allele der drei Serien nicht besteht. Einige Allele verschiedener Loci treten ungleich häufiger oder seltener miteinander auf - sie stehen im Kopplungsungleichgewicht (linkage disequilibrium). Ein für die weiße Rasse typisches Kopplungsungleichgewicht besteht zwischen HLA-A1 und HLA-B8 (75), 2 Antigene, die in Westeuropa ca. fünfmal häufiger miteinander vorkommen, als der Zufall es erwarten ließe. Weitere Beispiele solcher positiver Assoziationen sind in Tabelle 2 aufgeführt. Es ist leicht vorstellbar, daß Kopplungsungleichgewichte nicht nur zwischen Allelen der HLA-Genorte existieren, sondern auch zwischen einem Allel des klassischen HLA-Systems und einem anderen benachbarten Gen desselben Chromosoms.

Tabelle 2: Höchste positive Assoziationen zwischen folgenden Merkmalen (70, zit. nach 49):

HLA-A / HLA-B		HLA-B / HLA-C		HLA-A / HLA-C	
A 2	B 12	Bw35	Cw4	Aw23	Cw4
A 1	B 8	B 15	Cw3		
A 25	B 18	B 27	Cw2		
Aw33	B 14	B 12	Cw5		
Aw23	B 12	B 40	Cw2		
Aw30	B 13	B 40	Cw3		
A 11	Bw35	Bw22	Cw1		
A 3	B 7	B 27	Cw1		
		Bw22	Cw3		
		B 5	Cw1		

Als Ursache des Kopplungsungleichgewichtes werden diskutiert (90): (a) Selektion: Menschen mit einem bestimmten Haplotyp könnten eine bessere Überlebensrate oder höhere Fortplanzungsrate haben. (b) Späteres Auftreten eines Allels; die Zahl der seither vergangenen Generationen könnte noch nicht ausreichen, um ein Allel über Rekombinatio-

nen ins Kopplungsgleichgewicht zu bringen. (c) Einwanderung einer "Subpopulation" mit bestimmten Haplotyp in die Gesamtbevölkerung.

2.3 Die HLA Genregion (6, 90)

Neben den SD-Determinanten des A-, B- und C-Locus werden dem HLA-System noch weitere Komponenten zugerechnet. Die Gesamtheit der in der Umgebung der frei "klassischen" Loci auf dem Chromosom C 6 gelegenen, beim Menschen z. T. noch hypothetischen Genort wird unterschiedlich benannt: Ceppellini (23) spricht von einem "transplantation super gene". Svejgaard (102) schlägt den Begriff "Antigen/Rezeptor/Mediator/System (ARMS)" vor. Bertrams (12) bezeichnet dieselbe Region als "HLA-Super-Gen". Der Begriff "major histocompatibility system" bzw. "complex" (MHS bzw. MHC) wurde eingangs schon erwähnt (siehe Seite 1).

Im folgenden werden die bisher bekannten Loci der HLA-Genregion kurz dargestellt:

MLC-Locus

Dem 2. HLA-Locus benachbart liegt der 1. MLC Locus (LD1 bzw. HLA-D). Dieser Genort ist am Labor erfaßbar durch das Verhalten von Lymphocyten zweier Individuen in der Zellkultur (MLC = mixed lymphocyte cultur). Die z. B. durch Röntgenbestrahlung teilungsunfähig gemachten Lymphocyten einer Person können die Lymphocyten einer anderen Person zur Teilung anregen (MLC-positiv) oder nicht (MLC-negativ), je nachdem ob der andere Lymphocyt als fremd erkannt wird oder nicht. Es lassen sich mit MLC-homozygoten Zellen verschiedene Determinanten unterscheiden, die als LD-(lymphocyte defined) Antigene bezeichnet werden. Die stimulierenden Zellen sind in erster Linie B-Lymphocyten und Monocyten; die sich teilenden Antwortzellen hingegen sind T-Lymphocyten.

Außer dem HLA-D-Locus (LD 1) soll ein zweiter schwächer wirksamer MLC-Locus (LD 2) in der Nähe des 1. HLA-Locus gelegen sein (110). Seine Determinanten sind bisher jedoch unzulänglich definiert.

Immunantwortgene (Ir-genes)

Immune-associated- (Ia-) Antigen

Immunantwortgene bestimmen über die Antikörperproduktion eines Individuums gegenüber einem immunisierenden Antigen. Diese Gene sind für den Menschen noch hypothetisch. Verschiedene Immunantwortgene konnten im H-2 System der Maus, einem dem HLA-System des Menschen entsprechenden System, in der Nähe des H2-Locus (entsprechend HLA-B) nachgewiesen werden. Die Existenz dieser Gene beim Menschen ist sehr wahrscheinlich. Sie sind vermutlich zwischen dem HLA-B- und HLA-D-Locus oder in deren Nachbarschaft lokalisiert (104).

Die Immunantwortgene beeinflussen die Funktion der T-Lymphocyten sowie ein Protein, das als immune-associated-antigene (Ia-antigen) bezeichnet wird. Die Beziehungen zwischen Ir-Genen, Ia-Antigen, T- und B-Lymphocyten sind noch unklar. Ein Zusammenhang mit der Steuerung der zellulären und humoralen Immunreaktion ist anzunehmen.

Komplementsystem

Einige Gene, die Anteile der Komplementkaskade determinieren, sind ebenfalls innerhalb der HLA-Genregion zu finden. Im einzelnen sind dies der Properdin Faktor Bf (C 3 Proaktivator, früher GBG (3, 106) sowie die Komplementfaktoren C 2, C 4 und C 8.

Enzyme, erythrocytäre Antigene

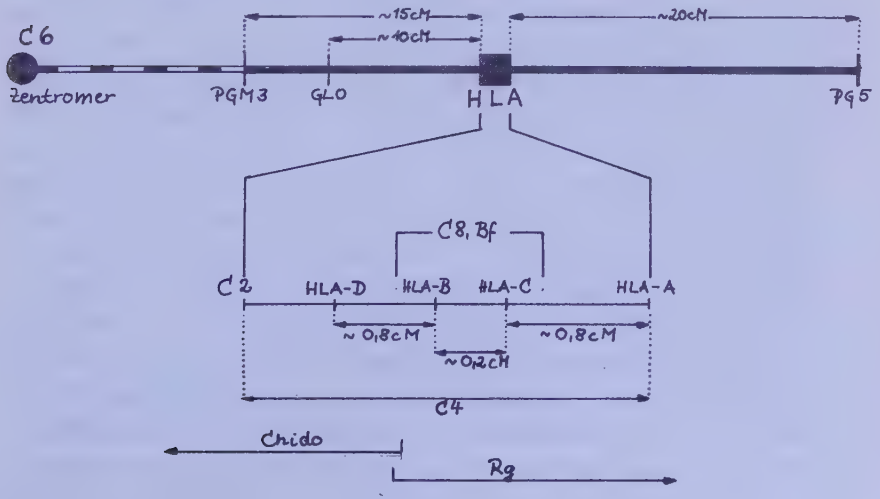
Auf dem Chromosom C 6 sind in weiterer Umgebung der HLA-Genregion weitere Gene lokalisiert, die vermutlich in kei-

ner besonderen Beziehung zum HLA-System stehen. Folgende Enzyme sind auf C 6 kodiert: Die Phosphoglucomutase-3 (PGM 3) und die Glyoxylase (GLO) auf der einen Seite der HLA-Region sowie Pepsinogen 5 (PG 5) auf der anderen Seite. Die ebenfalls Enzyme kodierenden Genorte ME 1 und SOD 2 sind in ihrer Lokalisation unklar.

Weiterhin sind die Gene für die erythrocytären Merkmale Chido und Rodgers (Rg) und möglicherweise für das P-Blutgruppensystem (58) auf dem Chromosom Nr. 6 zu finden. Die als Bg-System bezeichneten erythrocytären Merkmale sollen mit Merkmalen des HLA-Systems identisch sein (66, 83).

Die aus einer Veröffentlichung von Bach und van Rood (6) entnommene Abbildung veranschaulicht die Anordnung der beschriebenen Genorte, soweit sie als gesichert gelten kann.

Abb. 2: Schematische Darstellung der HLA Genregion auf dem Chromosom C 6 des Menschen (90).
Im oberen Teil der Abbildung ist ein Teil des Chromosom C 6 dargestellt, darunter vergrößert der HLA Genkomplex. Der Abstand zwischen den einzelnen Genorten ist angegeben, soweit er bekannt ist (cM = centimorgan = Rekombinationseinheiten). Erläuterung der Abkürzungen siehe Text.



2. 4 Nachweis der HLA- (SD-) Antigene

HLA-Antigenstrukturen finden sich an der Oberfläche aller menschlichen Körperzellen mit Ausnahme der Fettzellen. Für ihren Nachweis haben sich Leukocyten, Thrombocyten und Lymphocyten als besonders geeignet erwiesen, da diese Zellen problemlos verfügbar sind und die Antigene in großer Dichte tragen. Das Nachweisprinzip für die SD-Antigene (serologically detectable antigens) des 1., 2. und 3. Locus ist die Antigen-Antikörperreaktion. Das setzt für die Bestimmung unbekannter HLA-Antigene des Vorhandenseins spezifischer Antikörper voraus. Diese Antikörper der IgG-Fraktion liegen vor im Serum von Frauen, die durch eine Schwangerschaft immunisiert worden sind, bei gezielt immunisierten Freiwilligen oder bei durch Bluttransfusionen immunisierten Personen. Die Seltenheit geeigneter Antiseren, die mit großem Aufwand gesucht und spezifiziert werden und nur in begrenzter Menge zur Verfügung stehen, hat zur Entwicklung von serumsparenden Mikromethoden geführt. Gegenüber dem Mikro-Leukoagglutinationstest und der Mikromethode der Komplementbindungsreaktion mit Thrombocyten hat sich der Mikrolymphocytotoxizitätstest nach Terasaki (107) in der NIH-Standardtechnik (19) am besten bewährt und nahezu allgemein durchgesetzt. Dabei werden durch Zentrifugation über einen Dichtegradienten Lymphocyten gewonnen, die sich entsprechend ihrer Dichte isoliert in einer Fraktion angesammelt haben. Im Mikrolymphocytotoxizitätstest werden im positiven Fall HLA-Antigenstrukturen der Zelloberfläche mit den korrespondierenden Antikörpern besetzt. Unter Zutritt von Komplement kommt es zur Schädigung der Zellmembran, die dadurch für Farbstoffe durchlässig wird. Diese letale Zellveränderung kann, nachdem das Reaktionsbild durch Formalin fixiert worden ist, gut im Phasenkontrastmikroskop erkannt werden: Abgetötete Zellen sind dunkel, leicht gequollen und unscharf berandet (Test positiv) gegenüber den hellen, scharf berandeten lebenden Lymphocyten, die an der Antigen-Antikörperreak-

tion nicht teilgenommen haben (Test negativ). Durch Testung der Zellen eines Individuums mit zahlreichen bekannten Antiseren und Beurteilung in einem semiquantitativen Auswertungssystem können die HLA-Antigene dieser Person identifiziert werden.

2.5 Klinische Bedeutung des HLA-Systems (2, 68, 95, 104)

Nierentransplantation

Im klinischen Bereich ist das HLA-System in erster Linie durch seine Bedeutung für die Nierentransplantation bekannt. Die Chance für das Überleben einer transplantierten Niere erwies sich als optimal, wenn das Spenderorgan von einem HLA-identischen Geschwister mit gleicher ABO-Blutgruppe stammte. Die Bedeutung des HLA-Systems als Histokompatibilitätssystem wurde entsprechend hoch eingeschätzt. Die unter den Erwartungen liegende Erfolgsrate bei HLA-identischen und ABO-kompatiblen Transplantaten von nicht verwandten Spendern wies jedoch - ebenso wie bei experimentellen Hauttransplantationen (24) - daraufhin, daß neben dem HLA-System weitere unbekannte Faktoren eine Rolle spielen, wenn auch keine so grundlegende wie das HLA-System, das Hauptkompatibilitätssystem. Als unbedingte Voraussetzung für eine günstige Prognose einer Nierentransplantation werden heute ABO-Kompatibilität, möglichst weitgehende Identität im HLA-System (100 %ig im B-Locus) sowie ein negativer lymphocytotoxischer Cross-match (Kreuzprobe) gefordert. In jüngerer Zeit hat sich ergeben, daß bei Patienten, die vor der Transplantation mehrere Bluttransfusionen erhielten, eine wesentlich bessere Erfolgschance besteht als bei nicht transfundierten Organempfängern. Ein möglicher Grund hierfür ist die Selektion von Patienten mit schwacher Immunantwort, da ja nur transfundierte Empfänger mit negativem Cross-match ausgewählt werden.

Knochenmarktransplantation (82)

Knochenmarktransplantationen können in der Regel nur durchgeführt werden, wenn ein geeignetes Geschwister des Patienten als Spender zur Verfügung steht. Bei HLA-Identität und negativer MLC besteht die Aussicht, daß sich transfundierte hämatopoetische Stammzellen im Knochenmark des Empfängers ansiedeln und dort eine normale Hämatopoese übernehmen. Zusätzlich muß noch eine immunsuppressive Behandlung durchgeführt werden, falls es sich nicht um eineiige Zwillinge handelt. Die Zahl der Bluttransfusionen vor der Transplantation beeinflußt nach ersten statistischen Ergebnissen maßgeblich den Therapieerfolg. Die Erfolgschance ist im Gegensatz zur Nierentransplantation bei Patienten ohne oder mit wenigen Bluttransfusionen sehr viel günstiger als bei Patienten, die viele Transfusionen erhalten hatten. Daraus folgt, daß bei notwendigen Bluttransfusionen eine Immunisierung im HLA-System durch Übertragung HLA-kompatibler Konserven unbedingt vermieden werden muß.

Bluttransfusionen (14, 104)

Die HLA-Antigene - besonders reichlich auf Leukocyten, aber auch auf Erythrocyten vorhanden - induzieren in einem Fremdorganismus die Bildung von Immunantikörpern. Neben ihrer Bedeutung für die Transplantatverwerfung können diese Antikörper über die Freisetzung von Pyrogenen febrile Transfusionsreaktionen verursachen, die geschwächte Patienten durchaus gefährden können. Außerdem wird die Überlebenszeit der transfundierten Zellen, vor allem der Thrombocyten und Granulocyten, verkürzt und der gewünschte therapeutische Effekt nicht erreicht. Damit ergibt sich in speziellen Fällen die Indikation zur HLA-kompatiblen Transfusion von Blutbestandteilen oder auch Vollblut. Voraussetzung dafür ist bei dem großen Polymorphismus des HLA-Systems das Vorhandensein einer genügend großen Gruppe von HLA-typisierten Blutspendern. Durch überregionale Zu-

sammenfassung ließe sich das Spenderangebot beträchtlich erweitern. Der Rückgriff auf den einzelnen Spender kann durch die EDV wesentlich erleichtert werden.

HLA-System und Schwangerschaft (21, 49)

Die Mehrzahl der heute zur HLA Typisierung benutzten Antiseren stammt von Frauen, die durch eine Schwangerschaft im HLA-System immunisiert sind. Die Immunisierung erfolgt während der Schwangerschaft durch Übertritt kindlicher Leukocyten in den mütterlichen Kreislauf oder durch Einschwemmung von Trophoblastzellen der Placenta, die ebenfalls das kindliche HLA-Muster tragen. Die mütterlichen Immunantikörper gelangen, obwohl es sich um placentagängige IgG-Globuline handelt, erst in den kindlichen Kreislauf, wenn das große Absorbtionspotential der Placenta erschopft ist. Über die Bedeutung des mütterlichen HLA-Antikörper für das Kind gibt es unterschiedliche Meinungen. Zusammenhänge mit der Frühgeburtenrate, kongenitalen Anomalien und dem Verlauf des Morbus haemolyticus neonatorum werden diskutiert. Eine statistisch signifikante Erhöhung der Abortenrate beim Vorliegen einer Sensibilisierung im HLA-System wurde nachgewiesen (49).

Paternitätsserologie (68)

In der Paternitätsserologie findet das HLA-System ebenfalls praktische Anwendung. Abhängig von der speziellen Situation und der Zahl der getesteten Antigene läßt sich mit dem HLA-System alleine eine Vaterschaftsausschlußwahrscheinlichkeit von etwa 76 % erreichen. In Verbindung mit anderen Blutgruppensystemen steigt die Ausschlußchance auf 98,5 %.

Bei der Frage, ob Zwillinge eineiig oder zweieiig sind, kann die HLA-Typisierung ebenfalls zur Klärung beitragen.

3. HLA-System und Krankheiten

3.1 Allgemeiner Überblick (12, 72, 90, 103, 109)

Es ist in der Vergangenheit immer wieder versucht worden, Zusammenhänge zwischen bestimmten Erkrankungen und Blutgruppen als "genetischen Markern" aufzudecken (20). Wenn auch schwache Assoziationen beispielsweise zwischen der Blutgruppe O und dem Ulcus duodeni sowie zwischen der Blutgruppe A und dem Magencarcinom in großen Kollektiven nachgewiesen werden konnten, so sind diese Zusammenhänge doch ohne diagnostische Bedeutung geblieben und es haben sich keine wesentlichen Hinweise auf die Ätiologie oder Pathogenese der Krankheiten ergeben.

Die Bemühungen auf diesem Gebiet sind erneut aufgenommen worden, als die Kopplung zwischen dem HLA-analogen H-2-System der Maus und der Empfänglichkeit für die autoimmune Thyreoiditis und die lymphocytäre Choriomeningitis im Tierversuch erkannt worden ist. Erste Untersuchungen beim Menschen zur Assoziation des Morbus Hodgkin sowie der akuten lymphatischen Leukämie mit dem HLA-System haben als Ergebnis nur schwache bzw. gar keine Zusammenhänge gezeigt. Im Jahr 1972 haben die erstmals deutlichen Assoziationen zwischen der Psoraisis und dem HLA-Haplotyp A1/B17 (116) sowie zwischen der glutensensitiven Enteropathie (Zoeliakie) und dem Antigen HLA-B8 (38) neuen Auftrieb gegeben. 1973 ist über die enge Kopplung zwischen HLA-B27 und Morbus Bechterew berichtet worden (94). Seither sind zahlreiche Erkrankungen auf ihre Assoziation mit bestimmten HLA-Antigenen untersucht und einige signifikante Zusammenhänge auch nachgewiesen worden. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse im Überblick, geordnet nach dem relativen Erkrankungsrisiko (RR = relativ risk, siehe Seite 20) für die Träger des jeweiligen Antigens.

Tabelle 3: Erkrankungen mit gesicherten HLA-Antigen-Assoziationen (Diabetes mellitus siehe Tabelle 4), zusammengestellt nach Ryder et al. (89) und Svejgaard et al. (104).
RR = relatives Erkrankungsrisiko.

Krankheit	Antigen	RR
Spondylitis ankylopoetica	HLA-B27	81,0
Reiter-Syndrom	HLA-B27	40,0
Uveitis anterior acuta	HLA-B27	30,7
Glutensensitive Enteropathie	HLA-B8	9,5
Psoriasis vulgaris	HLA-B37	8,4
	HLA-B17	4,8
	HLA-B13	4,3
Morbus Addison	HLA-B8	6,4
Sjögren-Syndrom (47)	HLA-B8	5,3
Multiple Sklerose	HLA-Dw2	5,0
	HLA-B7	1,5
Arthritis psoriatica	HLA-B27	4,7
Myasthenia gravis	HLA-B8	4,4
Dermatitis herpetiformis	HLA-B8	4,3
Chronisch aggressive Hepatitis	HLA-B8	3,6
Morbus Basedow	HLA-B8	3,6
Morbus Hodgkin	HLA-B18	1,9
	HLA-B5	1,6
	HLA-A1	1,4
	HLA-B8	1,3
Lupus erythematodes disseminatus (55)	HLA-B8	1,8
Chronische Glomerulonephritis	HLA-A2	1,5
Akute lymphatische Leukämie	HLA-A2	1,3
	HLA-B8	1,3
	HLA-B12	1,2

Es fällt auf, daß für die vielfältigen Erkrankungen nur wenige ätiologische bzw. pathogenetische Faktoren diskutiert werden: Heredität, Virusinfektion, chronische Entzündung, gestörte Immunantwort und Autoaggression. Bei einer ganzen Reihe von Erkrankungen bei denen pathogenetische Zusammenhänge zum Teil bekannt sind (rheumatischer Formenkreis), tritt das Antigen HLA-B27 vermehrt auf. Eine weitere Gruppe von Erkrankungen ohne bekannte gemeinsame Ätiologie oder Pathogenese geht mit einem gehäuften Vorkommen von HLA-B8 einher; das relative Erkrankungsrisiko ist dabei im Durchschnitt nicht so stark erhöht wie bei Patienten mit einer HLA-B27-assoziierten Erkrankung. Bei einer dritten Gruppe von Krankheiten treten verschiedene HLA-Antigene mit vermehrter Häufigkeit auf. Tabelle 3 zeigt weiterhin, daß bei den meisten Assoziationen Antigene des B-Locus betroffen sind. Es ist denkbar, daß bei den anderen Erkrankungen das gehäufte Auftreten von Antigenen des 1. Locus nur durch deren Kopplungsungleichgewicht mit dem 2. Locus zustande kommt.

Die Beteiligung des HLA-Systems an bestimmten Krankheiten kann prinzipiell auf zwei Wegen nachgewiesen werden:
1. durch Populationsuntersuchungen und
2. durch Familienuntersuchungen.

1. Populationsuntersuchung

Bei nicht verwandten Patienten mit einer bestimmten Erkrankung wird der HLA-Phänotyp bestimmt. Die einzelnen HLA-Antigenfrequenzen werden mit den Antigenfrequenzen einer Kontrollgruppe verglichen, die aus ebenfalls nicht verwandten, gesunden Personen derselben Rasse bestehen muß. Unterschiedliche Häufigkeiten werden auf ihre statistische Signifikanz überprüft. Bei gesicherten Unterschieden ist es sinnvoll, die Stärke der Assoziation zwischen Antigen und Krankheit als relatives Erkrankungsrisiko (RR = relative risk) anzugeben. Ein Wert über 1 gibt die

erhöhte, ein Wert unter 1 die verminderte Frequenz des Antigens im Patientenkollektiv an. Die Methode ist 1955 von Woolf (117) zur Berechnung der "incidence Ratio" für die Relation zwischen Blutgruppen und Krankheiten ausgearbeitet worden.

2. Familienuntersuchungen

Sie werden in Familien durchgeführt, bei denen mehr als ein Familienmitglied einer Generation an der fraglichen Krankheit leidet. Folgende Ziele werden dabei verfolgt (103):

a) Es kann nachgewiesen werden, ob das in seiner Frequenz in Populationsstudien verändert gefundene Antigen wirklich ein genetisches Charakteristikum ist.
b) Es läßt sich erkennen, ob die Abweichung von der normalen Verteilung an einen bestimmten Haplotyp gebunden ist.
c) Der Erbgang einer Krankheit kann im einzelnen betrachtet werden und die direkte causale Verantwortlichkeit eines HLA-Antigens könnte erkannt werden.
d) Die Kopplung der Erkrankung mit anderen genetischen Faktoren kann analysiert werden. Diese Kopplungsuntersuchungen gewinnen zunehmend an Bedeutung, da angenommen wird, daß ein in veränderter Frequenz nachgewiesenes Antigen seinerseits nur ein indirekter Marker für die Gene ist, die über die Krankheitsempfänglichkeit bzw. -manifestation entscheiden.

Bei den in dieser Arbeit erwähnten Veröffentlichungen handelt es sich überwiegend um Populationsstudien. Die Ergebnisse von solchen Assoziationsuntersuchungen können aus verschiedenen Gründen nicht reproduzierbar, unklar oder falsch sein. Im folgenden werden einige grundsätzliche Fehlerquellen gesprochen (103).

1. Ein repräsentatives Kontrollkollektiv muß einem vergleichbaren Patientenkollektiv gegenüberstehen. Die rassi-

sche Zugehörigkeit beider Kollektive muß identisch sein. Geographische Variationen innerhalb einer Rasse sind zu bedenken. Die Personen dürfen in beiden Kollektiven nicht miteinander verwandt sein. Es scheint nicht notwendig zu sein, daß die Alters- und Geschlechtsverteilung sich in beiden Kollektiven entsprechen muß. Bei der Auswahl der Patienten muß bedacht werden, daß die meist aus Kliniken stammenden Kollektive eventuell eine Selektion bezüglich der Schwere des Krankheitsbildes darstellen. Als weitere Fehlerquelle könnte das untersuchte Krankheitsbild nicht einheitlich sein: Das Ergebnis der Untersuchung trifft in Wahrheit nur auf eine Gruppe innerhalb des Patientenkollektivs zu.

2. Fehler innerhalb der serologischen Nachweismethodik müssen ausgeschlossen sein, die Spezifität der verwendeten Antiseren muß gesichert sein. Ideal wäre es, Patienten und Kontrollgruppe in demselben Zeitraum mit denselben Antiseren von derselben Person durchführen zu lassen. Dies wird jedoch unnötig sein, wenn die Qualität der Typisierungen innerhalb eines Labors fortlaufend kontrolliert wird und die Ergebnisse von Zeit zu Zeit mit einem anderen Labor verglichen werden. Alter der Lymphocyten und Qualität der Komplemente können die Ergebnisse ebenfalls beeinflussen.

3. Die statistische Sicherung von Ergebnissen, hier zumeist Unterschiede in der Antigenfrequenz, ist ein eigenes Gebiet, für das im Einzelfall spezieller Rat eingeholt werden sollte. Mit dem Chi-Quadrat-Test werden signifikante Unterschiede ermittelt. Als Besonderheit müssen Fehler 1. Art (zufällig positive Ergebnisse) durch die Multiplikation des erhaltenen p-Wertes mit der Zahl der getesteten Antigene vermieden werden (16). Dabei wird die zufällige Verwerfung der Nullhypothese für jedes einzelne Antigen ausgeschaltet. Fehler 2. Art (zufällig negative Ergebnisse) kommen bei kleinen Kollektiven und

nur schwachen Assoziationen mit seltenen Antigenen sehr leicht vor. Für den Nachweis erhöhter Antigenfrequenzen kann schon die Vergrößerung der Kontrollgruppe Abhilfe schaffen. Verminderte Antigenfrequenzen sind immer schwerer nachzuweisen und lassen sich nur bei einem größeren Patientenkollektiv sichern.

Die Assoziation zwischen dem HLA-System und Krankheiten sind mit verschiedenen hypothetischen Modellen erklärt worden (übersetzt aus 1):

"a) Die Struktur des fraglichen HLA-Antigens könnte der Zelloberflächenstruktur von bestimmten Mikroorganismen sehr ähnlich sein. Es wäre dann für das Antigen-positive Individuum unmöglich, mit einer adäquaten Immunantwort gegen den Mikroorganismus zu reagieren ("molecular mimikry"). Diese Möglichkeit erscheint allerdings recht unwahrscheinlich, weil nicht alle Antigen-positive Personen erkranken und nicht alle Erkrankten Träger des Antigens sind.

b) Das HLA-Antigen könnte als Bindungsstelle für Viren, Bakterien oder andere pathogenetische Agentien fungieren. Diese Erklärung erscheint aus denselben Gründen wie oben unwahrscheinlich.

c) Die Assoziation zwischen HLA-Antigenen und Krankheit könnte eine enge Kopplung zwischen HLA-Antigen und Krankheitsgenen wiederspiegeln."

Diese hypothetischen "Krankheitsempfänglichkeitsgene" können, wie sich aus Studien am H-2-System der Maus schließen läßt, dem HLA-B-Locus benachbarte Immunantwortgene (Ir-genes) sein, die eine besondere immunologische Reaktionsbereitschaft des Organismus determinieren und somit als prädisponierende Faktoren gelten können. Verschiedene endoge-

ne (Hormone, andere Gene) und exogene Manifestationsfaktoren (Infektion, Trauma, Medikamente, Streß) bewirken den Ausbruch der Erkrankung (12). Andererseits könnte ein Ir-Gen auch vor einer Krankheit oder einem besonderen Krankheitsverlauf schützen, wie es bei der Maus für die Gross-Virus-induzierte Leukämie nachgewiesen worden ist. Die Annahme von über die Krankheitsempfänglichkeit entscheidenden Ir-Genen, die durch ihre Kopplung mit HLA-Antigenen nur indirekt erfaßbar sind, gilt heute als sinnvolle Arbeitshypothese.

Die klinische Verwertbarkeit der dargestellten Zusammenhänge ist zur Zeit noch sehr begrenzt. Beim Morbus Bechterew und mit Einschränkung auch beim Reiter-Syndrom kann der HLA-B27-Nachweis in Zweifelsfällen eine (früh-) diagnostische Hilfe sein. Man muß beachten, daß beim Morbus Bechterew in 8 % der Fälle falsch positive und in 10 % der Fälle falsch negative Ergebnisse zu erwarten sind. Beim Reiter-Syndrom liegen die Verhältnisse noch wesentlich ungünstiger. Es muß auch bedacht werden, daß das HLA-B27 bei verschiedenen anderen Arthropathien gehäuft nachgewiesen werden kann. Die Nützlichkeit der HLA-Typisierung für die klinische Diagnostik wird daher auch in Frage gestellt (90). Prognostische und therapeutische Relevanz kann die HLA-Typisierung bei Kindern haben, deren Eltern an einer HLA-assoziierten Erkrankung leiden. Ist beispielsweise bei einem Elternteil ein insulinbedürftiger Diabetes mellitus bekannt, kann mit einer HLA-Familienuntersuchung das Erkrankungsrisiko für das Kind abgeschätzt werden. Präventive Maßnahmen können eingeleitet werden (Vermeidung der Manifestationsfaktoren), und gegebenenfalls ist ein früher Therapiebeginn möglich.

Der wichtigste Anwendungsbereich für die Durchführung von HLA-Typisierungen bei Patienten liegt vorerst noch in der Grundlagenforschung, abgesehen von der Bedeutung für die

Transfusion und die Transplantation. Die Klassifikation und Unterteilung von einigen Krankheiten mit unklarer Ätiologie sowie die Aufklärung pathogenetischer Vorgänge und Zusammenhänge können durch die Untersuchung der Histokompatibilitätsantigene bei Patienten und deren Familien unterstützt werden.

3.2 Diabetes mellitus und HLA-System

3.2.1 Definition und Einteilung des Diabetes mellitus (50, 73, 85)

Der Diabetes mellitus wird derzeit definiert als erbliche chronische Stoffwechselkrankheit, die auf einem absoluten oder relativen Insulinmangel beruht. 1965 wurde von der WHO die folgende Einteilung des manifesten Diabetes mellitus empfohlen (113):

a) Infantiler oder kindlicher Diabetes ("infantile" oder "childhood diabetics"); Manifestationsalter zwischen 1 und 14 Jahren.

b) Jugendlicher Diabetes ("young diabetics"); Manifestationsalter zwischen dem 15. und 24. Lebensjahr.

c) Erwachsenendiabetes ("adult diabetics"); Manifestationsalter zwischen dem 25. und 64. Lebensjahr.

d) Altersdiabetes ("elderly diabetics"); Manifestationsalter 65 Jahre und älter.

Insulinabhängigkeit besteht in der Gruppa a immer, in der Gruppe b meistens, in der Gruppe c nicht unbedingt und in der Gruppe d selten. Die Bezeichnung "juvenile-type diabetes" soll bei Patienten angewandt werden, die Insulin benötigen und zur Ketoacidose neigen. Dieser "juvenile Diabetestyp" kann sich in jeder Altersgruppe manifestieren.

Als praktisch bewährte Einteilung nach klinischen Kriterien ist häufig eine Unterscheidung des manifesten Diabetes in juvenilen Diabetes (juvenile-onset diabetes, JOD, JDM) und Erwachsenendiabetes (maturity-onset diabetes, MOD) gebräuchlich. Als Charateristika des JOD gelten: Akuter Beginn, schweres klinisches Bild, Insulinabhängigkeit, keine Übergewichtigkeit des Patienten, meist frühzeitiger Erkrankungsbeginn.

Diabetikerkollektive werden vielfach nach der Manifestation der Erkrankung vor bzw. nach dem 30., 35. oder 40. Lebensjahr unterteilt. Vereinfachend kann gesagt werden, daß damit eine Unterscheidung zwischen JOD und MOD getroffen werden soll. Der MOD kann aber durchaus auch im jugendlichen Alter auftreten (8). JOD wird oft synonym mit Insulinbedürftigkeit, MOD mit Insulinunabhängigkeit benutzt.

Die Einteilung des Diabetes mellitus ist trotz der WHO-Empfehlung noch problematisch. Neben der Klassifizierung nach dem Manifestationsalter werden ätiologisch-klinische Gesichtspunkte, die Insulinsekretionskapazität oder therapeutische Besonderheiten zur Unterscheidung einzelner Diabetesformen herangezogen. Ergebnisse der HLA-Forschung könnten dazu beitragen, eine allgemein gültige Einteilung nach ätiologisch-pathogenetischen Prinzipien zu finden.

3.2.2 Ätiologie und Pathogenese des Diabetes mellitus

Die Ätiologie des Diabetes mellitus ist ungeklärt. Zwei Themenkreise lassen sich in der Diskussion um die Klärung der Krankheitsursache verfolgen: Heredität und Virusinfektion. Immunpathologische Mechanismen spielen in der Diskussion der Pathogenese eine wesentliche Rolle.

a) Heredität (56, 86, 118)

Wenn auch die Bedeutung genetischer Faktoren für die Entstehung des Diabetes mellitus durch Familien- und Zwillings-

untersuchungen hinreichend gesichert ist, so bleibt dennoch die genetische Grundlage trotz jahrelanger Bemühungen unklar. Ein an vier diabetogene Gene gebundener multifaktorieller Erbgang wird in einem vom chinesischen Hamster hergeleiteten hypothetischen Modell diskutiert (41). Der Erbgang beim Menschen ist jedoch ebenso unbekannt, wie die Gründe für das unterschiedliche Manifestationsalter oder die verschiedenen Verlaufsformen dieser Erkrankung. Die Heredität beschränkt sich vermutlich auf die Erkrankungsprädisposition; für die Manifestation sind zusätzliche Faktoren verantwortlich, wie beispielsweise Übergewichtigkeit, Streßsituationen (Infektion, Trauma, Operation), Pankreas- und Lebererkrankungen, Gravidität, endokrine Zweiterkrankungen oder beim iatrogenen Diabetes Corticoide, Diuretica und Kontrazeptiva (?) (85).

Es ist fraglich, ob es sich beim sogenannten primären oder genuinen Diabetes um ein einheitliches Krankheitsbild handelt (81, 86, 118). Bei der gebräuchlichen Unterteilung in JOD und MOD handelt es sich wahrscheinlich um Erkrankungen mit verschiedener Ätiologie und/oder Pathogenese, die eine Glukoseintoleranz gemeinsam haben.

Aus einer Zwillingsuntersuchung von Tattersall und Pyke (105) geht die unterschiedliche Relevanz der genetischen Komponente für den JOD einerseits und den MOD andererseits hervor: Bei Diabetesbeginn nach dem 40. Lebensjahr bestand nahezu 100 %ige Kondordanz, d. h. beide Zwillinge waren erkrankt. Bei Erkrankungsbeginn vor dem 40. Lebensjahr bestand nur 50 %ige Konkordanz. Damit wurde im Gegensatz zur früheren Vorstellung gezeigt, daß für Diabetiker mit späterem Erkrankungsbeginn die Heredität größere Bedeutung hat als für Diabetiker, die vor dem 40. Lebensjahr erkrankt sind. In der Gruppe des diskordanten diabetischen Zwilling war eine familiäre Belastung auch seltener nachweisbar. Der Schluß liegt nahe, daß beim JOD neben einer weniger wichtigen genetischen Komponente weitere exogene Faktoren

eine wesentliche Bedeutung haben müssen. In der Arbeit von Tattersall und Pyke konnte für die diskordante Gruppe keiner der oben genannten Manifestationsfaktoren in Zusammenhang mit dem dargestellten Ergebnis gebracht werden.

Zwei Fragen bleiben ungeklärt: Wenn bestimmte diabetogene Gene nicht direkt über die Erkrankung entscheiden, auf welchem Wege gelangen sie dann zur Wirkung und welche Manifestationsfaktoren lösen die Erkrankung aus?

b) Virusinfektion (43, 67, 99)

In der neueren Diskussion um die Ätiologie des Diabetes mellitus wird neben der erblichen Komponente einer Virusinfektion und autoimmunen Prozessen eine kausale Bedeutung beigemessen. Mumps-, Röteln- und Coxsackievirusinfektionen werden zum Teil schon seit langer Zeit in Zusammenhang mit dem Diabetes mellitus gesehen. Im Tierversuch konnte durch Infektion mit dem Enzephalomyocarditis- (EMC-) Virus bei Mäusen ein Diabetes induziert werden (27). Bei 0- bis 19jährigen Patienten, die einen insulinabhängigen Diabetes entwickelten, zeigte die Aufschlüsselung nach dem Erkrankungsmonat in einer epidemiologischen Studie eine auffällige jahreszeitliche Variation mit einer minimalen Erkrankungsrate im Juni und einer maximalen Häufung im Oktober (42). Ein Zusammenhang mit Coxsacke-B4-Virusinfektionen wurde u. a. durch die Tatsache bestärkt, daß beim JOD mit nur kurze Zeit zurückliegendem Erkrankungsbeginn hohe Coxsackie-B4-Virus-Antikörpertiter nachgewiesen wurden. Entsprechende neuere Daten für 5- bis 16jährige Diabetiker bestätigen die vorangegangenen Ergebnisse (43). Die Pathogenese des Diabetes wäre somit als zerstörende Infektion der Langerhansschen Inseln des Pankreas vorstellbar. Es muß aber betont werden, daß die Virusätiologie des Diabetes bisher in keinem Falle direkt bewiesen werden konnte (46).

c) Autoimmune Prozesse (18, 46, 79)

Es gibt verschiedene Hinweise auf immunpathologische Vor-

gänge in der Pathogenese des kindlichen und jugendlichen Diabetes. Seit langem bekannt und auch in jüngerer Zeit öfter bestätigt ist eine entzündliche lymphocytäre Infiltration der Langerhansschen Inseln des Pankreas (Insulitis). Diese Veränderungen finden sich häufig bei juvenilen Diabetikern, bei denen das Pankreas nur kurze Zeit nach dem Manifestwerden des Diabetes untersucht werden konnte. Sehr ähnliche Veränderungen konnten durch Immunisierung von Tieren gegen homologes oder heterologes Insulin erzeugt werden. Der Nachweis von Inselzellantikörpern (ICA = islet cell antibodies) bei fast allen Patienten mit einem neu erkannten JOD (60) deutet auf autoimmune Vorgänge hin. Der Antikörpertiter nimmt in den Monaten nach der Diagnose ab. Außerdem kann beim JOD eine gegen antigene Determinanten des endokrinen Pankreas gerichtete zelluläre Immunreaktion nachgewiesen werden (APCI = antipancreatic cell-mediated immunity). Aufschlußreich ist auch die Entdeckung von Antikörpern gegen Insulinrezeptoren bei Patienten mit extremer Insulinresistenz (40).

In den letzten Jahren brachten Untersuchungen des HLA-Systems bei Diabetikern wesentliche Anregungen für die Klärung der Ätiologie und der Pathogenese insbesondere des JOD. Sie werden im folgenden Teil dieser Arbeit ausführlicher besprochen. Sichere Zusammenhänge zwischen dem JOD und dem HLA-System wurden aufgedeckt. Sie unterstützen ein hypothetisches Modell, das die drei oben erläuterten ätiologischen und pathogenetischen Gesichtspunkte sinnvoll verknüpft (übersetzt aus 79):

"1. Die ererbte Empfänglichkeit bestimmter Individuen, einen juvenilen Diabetes mellitus zu entwickeln, wenn sie gewissen Umweltfaktoren (Virus? chemische Agentien?) ausgesetzt werden, wird wenigstens teilweise durch Immunantwortgene vermittelt, die mit HLA-Dw3 und Dw4 assoziiert sind.

2. Bei empfänglichen Individuen verursachen diese Immunantwortgene eine defekte T-Zell-Antwort (T- und B-Lymphocytenkooperation) gegenüber diesen Umweltfaktoren.

3. Dies führt direkt oder durch autoimmune Mechanismen zur Zerstörung der Beta-Zellen des Pankreas."

3.2.3 Untersuchungen zur Assoziation des Diabetes mellitus mit bestimmten HLA-Antigenen

Die erste Assoziationsstudie wurde 1972 von Finkelstein et al. (39) publiziert. Sie zeigte zunächst kein statistisch gesichertes positives Ergebnis. Umfangreichere Arbeiten mit immer differenzierteren Fragestellungen ergaben in den folgenden Jahren jedoch sichere Zusammenhänge. Einen Überblick über diese Untersuchungen die im Anschluß ausführlicher dargestellt werden, gibt Tabelle 4 (Seite 42).

Das rückwirkend als falsch negativ zu bezeichnende Ergebnis von Finkelstein et al. (USA) (39) aus dem Jahr 1972 ließ sich erklären durch das recht kleine Patientenkollektiv (44 Diabetiker, darunter 2 verwandte Patienten) und durch dessen rassische Inhomogenität (28 Weiße, 10 "Mexican Americans", 6 Schwarze). Obwohl für kein HLA-Antigen eine signifikant unterschiedliche Frequenz gesichert werden konnte, fiel bereits eine Häufung des HLA-B8 bei den Diabetikern auf (Phänotypfrequenz 0,34 gegenüber 0,25 in der Kontrollgruppe). Das relative Erkrankungsrisiko für B8-positive Patienten konnte hier nicht berechnet werden, da die entsprechenden Angaben zum Kontrollkollektiv fehlten.

An dieser Stelle sei eine neuere Untersuchung aus dem Jahr 1977 von Patal et al. (USA) (84) erwähnt, in der ein mit der vorangehenden Arbeit (39) gut vergleichbares Diabetikerkollektiv typisiert wurde. Bei 42 Weißen, 74 "Mexican Americans" und 80 in Amerika geborenen Schwarzen (alle in-

sulinabhängig) wurden die Antigene HLA-B8 und B15 besonders bei den weißen Patienten häufiger als in der 184 Personen umfassenden Kontrollgruppe gefunden. Die Frequenzunterschiede waren allerdings auch hier erst nach Kombination mit Kollektiven anderer Untersucher signifikant. Das relative Erkrankungsrisiko für HLA-B8-positive Weiße betrug 2,2.

Im Jahr 1973 wurde das Ergebnis von Finkelstein et al. von Singal et al. (Kanada) (97) überprüft. Bei 50 insulinpflichtigen Diabetikern wurde das Antigen HLA-B15 signifkant häufiger gefunden als in der Kontrollgruppe, die aus 100 gesunden Blutspendern bestand. Patienten und Personen der Kontrollgruppe waren Angehörige der weißen Rasse (Caucasians bzw. Europide). Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren die insulinabhängigen Diabetiker zwischen 18 und 84 Jahren alt. Über die Dauer ihrer Erkrankung wurden keine Angaben gemacht. Eine Gruppe von 21 insulinunabhängigen Diabetikern (30 bis 76 Jahre alt) zeigte keine Assoziation mit bestimmten HLA-Antigenen. Die Untersuchung der Geschlechtsverteilung und der Haplotypfrequenzen sowie der Nachweis von lymphocytotoxischen Antikörpern und verschiedenen Gewebeantikörpern deckte keine neuen Zusammenhänge auf. Die nachträgliche Berechnung des relativen Erkrankungsrisikos ergab den Wert von 5,1.

Von Nerup und Mitarbeitern (81) wurde das Ergebnis von Singal et al. (97) bestätigt. Zusätzlich zum HLA-B15 wurde von dieser Arbeitsgruppe HLA-B8 bei 146 dänischen Diabetikern im Vergleich mit einer großen Kontrollgruppe (n = 1967) signifikant häufiger gefunden. Der Unterschied war nahezu ausschließlich durch die Gruppe der 109 insulinabhängigen Diabetiker bedingt. In dieser Patientengruppe waren Diabetiker aufgeführt, die z. T. vor, z. T. nach dem 40. Lebensjahr erkrankt waren. Durch Einbeziehung von Erkrankungsalter und Körpergewicht stellte sich heraus, daß HLA-B8 besonders bei nicht übergewichtigen juvenilen Diabetikern

(d. h. vor dem 40. Lebensjahr erkrankt) gehäuft auftrat, während HLA-B15 bei insulinpflichtigen Diabetikern mit einem Erkrankungsbeginn nach dem 40. Lebensjahr genauso häufig vorkam wie bei juvenilen Diabetikern. Die Untersuchung der gegen fetales Kälberpankreas gerichteten zellulären Immunreaktion von Diabetikerlymphocyten ergab im Vergleich mit der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied. Durch Kombination der seinerzeit vorliegenden Daten errechneten Nerup et al. (81) ein relatives Erkrankungsrisiko von 2,0 bei B8-positiven Diabetikern.

Die bereits erwähnte Zwillingsuntersuchung aus England von Tattersall et al. (105), die die Differenzierung zweier grundsätzlich verschiedener Formen des Diabetes mellitus unterstützt, wurde durch die Arbeit von Nelson et al. (78) ergänzt: 22 Zwillingspaare, bei denen der Diabetes nach dem 45. Lebensjahr auftrat (MOD) und bei denen stets beide Zwillinge erkrankt waren, zeigten gegenüber verschiedener Kontrollgruppen anderer Untersucher keine Änderung der HLA-Antigenfrequenzen. Demgegenüber traten die Antigene HLA-B8 und B15 bei den nur zu 50 % konkordanten 62 Zwillingsparen mit einem Erkrankungsbeginn vor dem 45. Lebensjahr (JOD) häufiger auf, und zwar HLA-B15 sowohl bei konkordanten (= beide erkrankt) als auch bei diskordanten (= nur ein Zwilling erkrankt) Zwillingspaaren und HLA-B8 nur in der Gruppe der konkordanten Zwillinge. Als Schlußfolgerung wurde angenommen, daß sowohl bei den konkordanten als auch bei den diskordanten diabetischen Zwillingspaaren eine genetische Prädisposition bestand, daß jedoch der Krankheitsempfänglichkeit in beiden Gruppen verschiedene Allele zugrunde lagen. Auf die unterschiedliche ätiologische Bedeutung von genetischen und exogenen Faktoren in den beiden Kollektiven wurde bereits oben hingewiesen. Das relative Erkrankungsrisiko für HLA-B8- oder B15-positive diabetische Zwillinge konnte für diese Arbeit ebenfalls nicht berechnet werden, da kein geeignetes Kontrollkollektiv zur Verfügung stand.

Von Schernthaner und Mitarbeitern wurde 1975 (93) neben HLA-B8 und HLA-B15 erstmals ein Antigen des 3. Locus in Zusammenhang mit dem Diabetes mellitus gebracht: Bei 50 jugendlichen bzw. juvenilen Diabetikern aus Österreich (Erkrankungsbeginn vor dem 40. Lebensjahr) wurde HLA-Cw3 signifikant häufiger als in der Vergleichsgruppe nachgewiesen . Als Kontrollkollektiv dienten 450 gesunde Blutspender. Schernthaner et al. nahmen an, daß in der Gruppe der HLA-B15- und/oder HLA-Cw3-positiven Patienten in erster Linie HLA-Cw3 mit dem juvenilen Diabetes assoziiert ist und HLA-B15 nur durch sein Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw3 in erhöhter Frequenz auftritt. Auch für HLA-B8 wurde die Annahme formuliert, daß auch dieses Antigen vielleicht nicht direkt mit dem juvenilen Diabetes assoziiert ist, sondern möglicherweise im Kopplungsungleichgewicht mit einem noch unbekannten Antigen des 3. Locus steht, das seinerseits für die Erkrankung verantwortlich sein könnte. In dieser Untersuchung betrug das relative Erkrankungsrisiko für HLA-B8-positive Patienten 3,3, für HLA-B15-positive ebenfalls 3,3 und für HLA-Cw3-positive Patienten 3,1.

Thomsen et al. (108) untersuchten in Fortführung der Arbeit von Nerup et al. (81) die Antigenfrequenzen des HLA-D-Locus bei 42 juvenilen Diabetikern. Die Frequenz des HLA-Dw3 war bei HLA-B8-positiven Patienten gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Das relative Erkrankungsrisiko bei Dw3-positiven Diabetikern war mit 4,5 nahezu doppelt so hoch wie bei HLA-B8-positiven Patienten (2,4). Die Häufung von HLA-Dw4 bei HLA-B15 positiven Patienten war hier noch nicht signifikant, ergab mit 3,7 jedoch ebenfalls ein recht hohes relatives Erkrankungsrisiko. Thomsen und Mitarbeiter wiesen darauf hin, daß die Antigene des D-Locus enger mit einem über die Erkrankung entscheidenden Immunantwortgen gekoppelt sind als die Antigene des 2. Locus. Weiterhin stellten sie eine mögliche gemeinsame Pathogenese von HLA-B8-assoziierten Erkran-

kungen zur Diskussion, nämlich Morbus Basedow, Morbus Addison und Diabetes mellitus, deren Assoziation mit HLA-Dw3, soweit sie untersucht worden ist, noch stärker war als mit HLA-B8: Ein gemeinsames mit HLA-Dw3 gekoppeltes Immunantwortgen könnte für die Gruppe der organspezifischen Autoimmunkrankheiten verantwortlich sein. Entsprechende Vorstellungen, bezogen auf HLA-B8-assoziierte Erkrankungen wurden in anderem Zusammenhang auch von Gershwin et al. (47) geäußert. Die zusätzliche Häufung von HLA-Bw15 bei juvenilen Diabetikern stellte nach Thromsen et al. eine Besonderheit in dieser pathogenetischen Gruppe dar, die auf ein spezielles Gen hindeutet, das die Beta-Zellfunktion des Pankreas beeinflußt. Die jüngste Mitteilung dieser Autorengruppe (80), die sich auf die Untersuchung von 125 insulinpflichtigen Diabetikern stützte, untermauerte die Vorstellung von der Existenz zweier diabetogener Gene in der HLA-Genregion, die eng mit HLA-Dw3 (relatives Erkrankungsrisiko 3,7) bzw. HLA-Dw4 (relatives Erkrankungsrisiko 4,9) assoziiert sind.

Barbosa et al. (10) (USA) untersuchten 1976 die HLA-Antigenfrequenzen bei 110 juvenilen (Erkrankungsbeginn vor dem 30. Lebensjahr) insulinabhängigen Diabetikern, die als diabetische Folgeerkrankung bereits eine Glomerulosklerose, ein fortgeschrittenes Nierenversagen und zum größten Teil auch eine proliferative Retinopathie als Ausdruck einer diabetischen Mikroangiopathie aufwiesen. Bei diesen Patienten wurden HLA-A1 und HLA-B8 im Vergleich mit einer aus Blutspendern bestehenden Kontrollgruppe signifikant häufiger gefunden. Die Frequenz des HLA-B15 war in den Kollektiven nicht verschieden, signifikant unterschiedliche Geschlechtsverteilungen waren nicht nachweisbar. Das relative Erkrankungsrisiko betrug für A1-positive Patienten 2,4, für B8-positive Patienten 3,1. In der Diskussion wurde auf die mögliche genetische Komponente der diabetischen Mikroangiopathie hingewiesen und die Zuordnung des durch Gefäßveränderungen komplizierten juvenilen Diabetes zu den

Autoimmunkrankheiten unterstützt.

Von Bertrams und Mitarbeitern (15) (BRD) wurde bei 112 insulinabhängigen Diabetikern zusätzlich zur HLA-Typisierung eine quantitative Bestimmung der Insulinantikörper durchgeführt. Die HLA-Antigenfrequenzen des Diabetikerkollektivs wurden mit denen einer 1 000 Blutspender umfassenden Kontrollgruppe verglichen. Die Diabetiker wurden nach dem Insulinantikörpertiter in 3 Gruppen mit hohem ("high responder"), mittlerem ("medium responder") und nicht nachweisbarem ("non-responder") Antikörperspiegel unterteilt. Im Patientenkollektiv wurde zusätzlich zur bereits bekannten Häufung der Antigene HLA-B8 und HLA-B15 eine signifkant verminderte Frequenz des HLA-B7 nachgewiesen. Die Häufung des HLA-B8 sowie die Verminderung des HLA-B7 war in erster Linie auf die Gruppe der "non-responder" zurückzuführen, in der auffälligerweise HLA-B15 in normaler Frequenz gefunden wurde. In der Gruppe der "high-responder" dagegen wurde HLA-B15 gehäuft gefunden, HLA-B8 wies eine annähernd normale Frequenz auf und HLA-B7 wurde nicht signifikant seltener nachgewiesen. Durch diese Ergebnisse wurde die Vorstellung von zwei pathogenetisch unterschiedlichen Formen des insulinpflichtigen Diabetes mellitus unterstützt. Die Autoren äußerten weiterhin die Vermutung, daß HLA-B7 als protektives Gen vor der Entwicklung eines Diabetes schützen könnte und daß bei der HLA-B8 assoziierten Form des Diabetes eine Autoimmunreaktion als pathogenetisches Agens anzunehmen wäre. Das aus den Prozentangaben dieser Arbeit errechnete relative Erkrankungsrisiko betrug für das gesamte Patientenkollektiv 1,7, für "non-responder" 2,7.

Cathelineau et al. (22) (Frankreich) berichteten in einer kurzen Mitteilung über die HLA-Antigenfrequenzen bei 90 insulinabhängigen Diabetikern (Vergleichskollektiv n = 152) unter Berücksichtigung des Alters bei Erkrankungsbeginn. HLA-B8 und erstmals auch HLA-B18 wurden im Patientenkollek-

tiv signifikant häufiger gefunden. Die signifikante Erhöhung war bedingt durch die Häufung des HLA-B8 bei den Patienten, die bei Erkrankungsbeginn jünger als 35 Jahre alt waren. Die Frequenz von HLA-B15 zeigte im Gesamtkollektiv keinen Unterschied zur Vergleichsgruppe, konnte jedoch relativ häufig bei den vor dem 10. Lebensjahr erkrankten Patienten, relativ selten bei den zwischen dem 10. und 40. Lebensjahr Erkrankten nachgewiesen werden. Das relative Erkrankungsrisiko für B8- bzw. B18-positive Diabetiker betrug für das Gesamtkollektiv 3,6 bzw. 2,8.

Von der Arbeitsgruppe um Cudworth und Woodrow (England) wurden seit 1974 mehrfach sich ergänzende Untersuchungen über die HLA-Antigenfrequenzen bei Diabetikern veröffentlicht (28, 29, 30, 31); die umfassendste Arbeit stammte aus dem Jahr 1976 (32). Bei 288 insulinabhängigen Diabetikern, die bei Erkrankungsbeginn jünger als 30 Jahre alt waren, wurden die Antigene HLA-B8, -B15 und -B18 signifikant häufiger (relatives Erkrankungsrisiko 2,5; 2,0 und 2,4) und HLA-B7 signifikant seltener (relatives Erkrankungsrisiko 0,43) gefunden als in der aus 350 gesunden Blutspendern bestehenden Kontrollgruppe derselben geografischen Region. 100 Insulinunabhängige "Altersdiabetiker" (late onset diabetes) zeigten eine normale Verteilung der HLA-Antigene. Bei 50 insulinpflichtigen "Altersdiabetikern" wurde HLA-B8 in erhöhter Frequenz nachgewiesen. Bei 7,3 % der insulinabhängigen juvenilen Diabetiker gegenüber 1,3 % in der Kontrollgruppe traten HLA-B8 und -B15 gemeinsam auf. Das relative Erkrankungsrisiko für HLA-B8- und -B15-positive Patienten betrug 5,4. Bei 12,9 % gegenüber 7,2 % lag HLA-B8 möglicherweise homozygot vor (nur 1 Antigen auf dem B-Locus nachweisbar). HLA-A1 wurde entsprechend seines Kopplungsungleichgewichts mit HLA-B8 bei den insulinpflichtigen Diabetikern häufiger gefunden, HLA-A11 ließ sich bei ihnen signifikant seltener nachweisen. Die Berücksichtigung des Erkrankungsalters ergab keine signifikanten Zusammenhänge zwischen insulinpflichtigem Diabetes und bestimmten HLA-Antigenen.

Als eine Schlußfolgerung stellten die Autoren heraus, daß ihre Ergebnisse die Differenzierung zweier grundsätzlich verschiedener Diabetesformen unterstützten. Neben dem nicht insulinpflichtigen Diabetes einerseits wäre der insulinpflichtige Diabetes andererseits eine eigenständige Erkrankung, die an bestimmte diabetogene Gene gebunden wäre. Diese Gene stünden in einem Kopplungsungleichgewicht mit Genorten des HLA-Systems. Der insulinpflichtige Diabetes könnte unabhängig vom Erkrankungsalter eine pathogenetische Einheit darstellen. In einer früheren Arbeit derselben Autoren (30) waren innerhalb der Gruppe der insulinabhängigen Diabetiker altersabhängige Assoziationen mit HLA-B8 bzw. HLA-B15 diskutiert worden, die sich in der neuen Untersuchung nicht bestätigen ließen.

Die mehrfach aufgefallene verminderte Frequenz des Antigens HLA-B7 bei juvenilen Diabetikern war statistisch nicht immer eindeutig zu sichern. Ludwig und Mitarbeiter (63) bestätigten in einer zusammenfassenden Untersuchung (aus 29, 15, 91, 108) die Signifikanz dieser Veränderung für insulinabhängige Diabetiker aus Nordwesteuropa (DK, GB, BRD, A). Für HLA-B7-positive Diabetiker ließ sich ein auf 0,41 vermindertes relatives Erkrankungsrisiko berechnen. Als hypothetische Erklärung wurde erwogen, daß HLA-B7 in Diabetikerfamilien ein Marker für ein protektives Gen sein könnte. Andererseits würde das Fehlen von HLA-B7 bei HLA-B8-, -B15- und -Cw3-positiven Patienten ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bedeuten.

Eine Untersuchung von Mirouze et al. (74) an 100 insulinabhängigen Diabetikern aus Südfrankreich erbrachte vom bisherigen abweichende Ergebnisse: Während HLA-B8 und -B15 nicht signifikant häufiger nachgewiesen werden konnten, waren die erhöhte Frequenz von HLA-Da25 und HLA-B18 sowie die verminderte Frequenz von HLA-A11 und HLA-B12 im Gesamtkollektiv statistisch signifikant. Das Vergleichskollektiv bestand aus 270 Personen, in deren Anamnese kein Diabetes

bekannt war. Die Abweichung von den bisher bekannten Ergebnissen wurde mit der unterschiedlichen Verteilung der HLA-Merkmale innerhalb der verschiedenen Stämme der weißen Rasse erklärt. Bei den 59 juvenilen Diabetikern dieser Untersuchung (Erkrankungsalter im Mittel 16,6 Jahre) waren nur die Frequenzunterschiede von HLA-Da25 und HLA-B12 signifikant. Die Autoren beobachteten in ihrem Patientenkollektiv, daß eine diabetische Retinopathie häufiger bei HLA-A3-positiven Diabetikern auftrat. Auch die diabetische Neuropathie war bei HLA-A3-und HLA-B8-positiven Patienten häufiger.

Das 1975 von Cudworth und Woodrow (30) diskutierte unterschiedliche Erkrankungsalter der insulinpflichtigen Diabetiker bei Vorliegen bestimmter HLA-Antigene wurde von Schernthaner und Mitarbeitern (91) (Österreich) näher untersucht. Im Gegensatz zu der englichen Arbeitsgruppe konnten Schernthaner et al. entsprechende Zusammenhänge sichern: HLA-B8 kam in allen Altersgruppen häufiger vor als in der 450 Blutspender umfassenden Kontrollgruppe, besonders häufig jedoch in der Gruppe der Patienten, die vor dem 16. Lebensjahr erkrankt waren. In dieser Altersgruppe wurden HLA-B15 und HLA-Cw3 auffällig selten nachgewiesen. Diese beiden Antigene kamen in allen anderen Altersgruppen signifikant häufiger als im Vergleichskollektiv vor. Im Gesamtkollektiv wurde die in der vorangegangenen Untersuchung derselben Arbeitsgruppe (93) gefundene erhöhte Frequenz von HLA-B8 und -B15 sowie -Cw3 bestätigt (relatives Erkrankungsrisiko 3,5; 2,9 und 2,5). Die Autoren diskutierten eine genetisch bedingte unterschiedliche Krankheitsempfänglichkeit bei kindlichem Diabetes mellitus einerseits und den später erkrankten insulinpflichtigen Diabetikern andererseits. Die vorgelegten Ergebnisse ließen die Interpretation zu, daß zu verschiedenen Zeitpunkten verschiedene Viren in der Pathogenese des Diabetes mellitus von Bedeutung sein könnten Eine neuere Veröffentlichung derselben Arbeitsgruppe (64), der die HLA-Phänotypen von 93 juvenilen Diabetikern zugrunde lagen, sicherte die vor und nach dem 15. Lebensjahr unterschiedliche Frequenz von HLA-B15 und

HLA-Cw3.

In einer kurzen Mitteilung berichteten Barta und Simon (11) (Ungarn) 1977 über die HLA-Antigene bei 180 insulinabhängigen Diabetikern, die vor dem 16. Lebensjahr erkrankt waren. HLA-B8 kam im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 352) signifikant häufiger vor (relatives Erkrankungsrisiko 2,0), HLA-B15 zeigte keinen signifikanten Frequenzunterschied (relatives Erkrankungsrisiko 1,17). HLA-B8 und -B15 gemeinsam konnten in dem Diabetikerkollektiv wesentlich häufiger als in der Vergleichsgruppe nachgewiesen werden, nämlich in 15,6 % gegenüber 0,9 %. Daraus ergab sich für das gleichzeitige Vorkommen der Antigene HLA-B8 und -B15 bei einem Diabetiker in dieser Untersuchung ein relatives Erkrankungsrisiko von 18,25.

Von Irvine et al. (54) (England) wurden außer der Bestimmung der Inselzellantikörper von 952 Diabetikern die HLA-Antigenfrequenzen in einem speziell ausgesuchten Patientenkollektiv untersucht: Bei 100 Diabetikern mit Inselzellantikörpern (ICAb-positiv) - 90 von ihnen dauernd insulinpflichtig - sowie 22 insulinpfoichtigen Diabetikern ohne Inselzellantikörper (ICAb-negativ) wurde der HLA-Phänotyp bestimmt. In der Gruppe der ICAb-positiven Patienten waren HLA-A1 und -B8 (nicht HLA-B15 oder -Cw3) signifikant häufiger und HLA-B7 seltener nachzuweisen als in der 300 Personen umfassenden Kontrollgruppe. Die Frequenz des HLA-B8 war bei ICAb-positiven Patienten gegenüber den ICAb-negativen Patienten signifikant höher. Als Tendenz wurde die vermehrte Häufigkeit der Antigene HLA-Aw24, -B15 und -Cw3 bei den ICAb-negativen Diabetikern ausgelegt. Die bereits erwähnte Tatsache, daß Inselzellantikörper mit zunehmender Krankheitsdauer immer seltener nachweisbar werden, wurde auch von Irvine et al. bestätigt. Es bestand weiterhin ein Zusammenhang zwischen der Persistenz der Inselzellantikörper, dem Vorhandensein von begleitenden Autoimmunerkrankungen und dem Vorkommen der Antigene HLA-B8, HLA-A1 sowie HLA-B8 und -A1 ge-

meinsam. 70 % der Diabetiker, die nach mehr als 5 Jahren noch nachweisbare Inselzellantikörper hatten, waren Träger des Antigens HLA-B8. Bei den Patienten, die im Laufe der Zeit abfallende ICAb-Titer aufwiesen, fiel ein gehäuftes Vorkommen von HLA-Cw5 auf. Zwischen HLA-B15 und der Inselzellantikörperpersistenz bestand keine Korrelation. In einer vergleichbaren Untersuchung hatten Lendrum et al. (60) keinen Zusammenhang zwischen HLA-B8 und dem Vorkommen von Inselzellantikörpern nachweisen können. Dieses Ergebnis interpretierten Irvine et al. als falsch negativ durch die zu kleine Zahl der untersuchten Patienten.

Zusätzlich neue Parameter wurden in der Arbeit von Ludvigson et al. (61) (Schweden) einbezogen: Neben der HLA-Typisierung von 102 insulinpflichtigen Diabetikern (Erkrankungsbeginn) zwischen dem 1. und 16. Lebensjahr, Erkrankungsdauer 1 bis 17 Jahre) wurden bei 94 dieser Patienten Insulinantikörper und C-Peptid bestimmt sowie anamnestische und klinische Angaben ausgewertet. Nur HLA-B8 (relatives Erkrankungsrisiko 2,64) und HLA-B7 (relatives Erkrankungsrisiko 0,40) zeigten im Vergleich mit der 500 Personen umfassenden Kontrollgruppe signifikante Frequenzänderungen. Traten HLA-B8 und HLA-B15 gemeinsam auf, so bestand ein relatives Erkrankungsrisiko von 2,76 (vergleiche Barta und Simon (11) 18,3 sowie Cudworth und Woodrow (32) 5,4). Bei 34 % der Diabetiker fand sich eine familiäre Belastung, bei 31 % der Patienten war dem klinischen Diabetesbeginn eine Infektionskrankheit vorangegangen. 85 % der Patienten wiesen bei Krankenhausaufnahme eine Ketonurie auf. Bei HLA-B7-positiven Patienten war dem Diabetesbeginn gegenüber den anderen Diabetikern auffällig selten eine Infektionskrankheit vorangegangen (7,1 % gegenüber 31,4 %). Bei 34 % der Diabetiker ließ sich als Ausdruck einer restlichen endogenen Insulinproduktion das C-Peptid in meßbarer Menge erfassen. Das C-Peptid war bei HLA-B8- und HLA-B15-positiven Patienten seltener, bei HLA-B18-positiven Patienten häufiger nachweisbar. Insulinantikörper waren außer bei 4

Patienten immer vorhanden. Diabetiker mit dem Antigen HLA-B7 hatten signifikant geringere, HLA-B15-positive Diabetiker höhere Konzentrationen an B15 Insulinantikörpern im Serum als die Träger anderer HLA-Antigene. Das Gesamtinsulin im Serum war bei einer auffällig großen Zahl HLA-B8-positiver Diabetiker im Vergleich zu den Trägern anderer Antigene sehr niedrig. Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, daß im Rahmen des juvenilen Diabetes eine unterschiedliche und vielleicht weniger schwere Form abgegrenzt werden könnte, die mit HLA-B7 und möglicherweise auch HLA-B18 assoziiert wäre.

Einige weitere Untersuchungen sollen hier nur kurz erwähnt werden, da sie aus verschiedenen Gründen mit der vorgelegten Arbeit schlecht verglichen werden können.

Zwei japanische Arbeitsgruppen (57, 112) berichteten über das gehäufte Auftreten einer in Japan bekannten Variante des HLA-Bw22 (HLA-Bw54 = HLA-Bw22J bzw. H1) bei juvenilen Diabetikern (20 bzw. 32 Patienten). Eine erhöhte Frequenz der Antigene HLA-B8 und HLA-Aw32 sowie eine verminderte Frequenz von HLA-A11 und HLA-Bw35 bei kindlichen Diabetikern wurde von einer Gruppe italienischer Autoren mitgeteilt (51). In der Bevölkerung von Sardinien wurden HLA-Bw35 und HLA-B15 bei juvenilen Diabetikern häufiger als in der Kontrollgruppe nachgewiesen (26). Bei jüdischen insulinpflichtigen Diabetikern wurde HLA-A26 gehäuft gefunden; die Frequenz des HLA-B8 war ebenfalls erhöht, der Unterschied zum Vergleichskollektiv war jedoch nicht signifikant (44). 1975 wurde nochmals eine Assoziation zwischen dem Diabetes mellitus und bestimmten HLA-Antigenen in Frage gestellt (36).

Andere Veröffentlichungen befaßten sich mit dem Erbgang der HLA-Merkmale in Diabetikerfamilien (77, 88, 100), mit dem Zusammenhang zwischen HLA-Merkmalen und pathologischen Glukosetoleranztests bei nicht erkrankten Mitgliedern von

Tabelle 4: Signifikante Assoziationen zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem Diabetes mellitus nach den Untersuchungen verschiedener Autoren.

Nr.	Autor	Lit.	Jahr	Diabetiker mit/ohne Insulin	
01.	Finkelstein et al.	(39)	1972	44	
02.	Singal et al.	(97)	1973	50	
					21
03.	Nerup et al.	(81)	1974	109	37
04.	Nelson et al.	(78)	1975	2x22	
				2x62	
05.	Schernthaner et al.	(93)	1975	50	
06.	Thomsen et al.	(108)	1975	15	
07.	Barbosa et al.	(10)	1976	110	
08.	Bertrams et al.	(15)	1976	112	
09.	Cathelineau et al.	(22)	1976	90	
10.	Cudworth and Woodrow	(32)	1976	288	
				50	
				100	
11.	Ludwig et al.	(63)	1976	311	
12.	Mirouze et al.	(74)	1976	100	
13.	Schernthaner et al.	(91)	1976	17	
				19	
				28	
14.	Barta et al.	(11)	1977	180	
15.	Irvine et al.	(54)	1977	90	10
16.	Ludvigson et al.	(61)	1977	102	
17.	Patal et al.	(84)	1977	42	
18.	Ludwig et al.	(64)	1977	93	

Anmerkungen zur Tabelle:

JOD = juveniler Diabetes mellitus (juvenile-onset diabetes)
MOD = Erwachsenentyp (maturity-onset diabetes)
n.s. = keine signifikanten Unterschiede zum Kontrollkollektiv
RR = relatives Erkrankungsrisiko (bezogen auf HLA-B8)

Erkrankungs-alter	HLA-Antigene häufiger	seltener	RR
01 - 17	n.s.	n.s.	---
"adult"	B15	n.s.	---
"adult"	n.s.	n.s.	---
JOD, MOD	B8, B15	n.s.	1,9
über 45	n.s.	n.s.	---
unter 45	B8, B15	n.s.	---
unter 40	B8, B15, Cw3	n.s.	3,3
JOD	Dw3	n.s.	---
unter 30	A1, B8	n.s.	3,1
JOD	B8, B15	B7	1,7
62 Pat. unt. 35	B8, B18	n.s.	3,6
unter 30	B8, B15, B18	B7	2,5
über 30	B8	n.s.	---
über 30	n.s.	n.s.	---
JOD	---	B7	---
40 ± 9	Da25, B18	A11, B12	---
0 - 15			
16 - 25	B8, B15, Cw3	n.s.	3,5
26 - 39			
unter 15	B8	n.s.	2,0
(ICAb+)	A1, B8	B7	4,0
01 - 16	B8	B7	2,6
JOD, MOD	B8	n.s.	2,2
0 - 15			
16 - 25	B8, B15, Cw3	n.s.	3,0
26 - 39			

Anmerkungen zur Tabelle:

ICAb+ = Inselzellantikörper- (Islet-cell-antibody) positiv

Genaue Daten zu der Zusammensetzung der Patientenkollektive finden sich im Text.

Diabetikerfamilien (59, 62), mit der HLA-Rekombinationshäufigkeit in Diabetikerfamilien (7, 71, 96, 101), mit den Zusammenhängen zwischen einer humoralen Abwehrschwäche gegenüber bestimmten Bakterienantigenen bei juvenilen Diabetikern und deren HLA-Merkmalen (65), mit den Zusammenhängen zwischen HLA-Antigenen und gegen Pankreasgewebe gerichteter Autoimmunität (17, 25, 51, 76), mit einer möglichen Beziehung zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem Auftreten einer Insulinallergie (13, 48), sowie mit der Fähigkeit juveniler Diabetiker zur Insulinantikörperbildung bei Trägern bestimmter HLA-Antigene (92).

Im Zusammenhang mit der möglichen Virusätiologie des Diabetes mellitus wurden von Rolles et al. (87) die HLA-Antigenfrequenzen von 56 Kindern mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus unter Berücksichtigung des Erkrankungsmonats näher untersucht. 81 % der HLA-B8-positiven Patienten waren in den Monaten Oktober bis Februar erkrankt, während die HLA-B8-negativen Patienten keine jahreszeitliche Variation zeigten. Rolles et al. sahen in diesen Ergebnissen eine Unterstützung der Hypothese, daß eine virusinduzierte Form des Diabetes mellitus bei HLA-B8-positiven Patienten durch deren besondere Empfänglichkeit bevorzugt auftritt. Barbosa et al. (9) konnten in einer Untersuchung von 62 Diabetikern mit Mikroangiopathie die Ergebnisse von Rolles et al. (87) nicht bestätigen.

4. Zusammenfassung der Literatur

Aus der Literaturübersicht läßt sich zusammenfassend folgendes feststellen:

Für den insulinunabhängigen Diabetes mellitus (Erwachsenendiabetes, Altersdiabetes MOD) besteht nach den Ergebnissen mehrerer Untersuchungen keine Assoziation mit dem HLA-System. Der MOD stellt gegenüber dem mit dem HLA-System in Zusammenhang stehenden insulinpflichtigen Diabetes (juveniler Diabetes, JOD) eine eigenständige Krankheitseinheit mit unterschiedlicher Pathogenese dar (32, 81). Für diese erste Unterteilung des idiopathischen Diabetes mellitus ist das Manifestationsalter der Erkrankung weniger bedeutsam als die Insulinbedürftigkeit. Die Assoziation des insulinpflichtigen Diabetes mit dem Antigen HLA-B8 kann auf Grund zahlreicher Untersuchungen als gesichert angenommen werden (gültig für die weiße Bevölkerung der USA sowie Nordwest- und Mitteleuropa). HLA-B8 kann dabei als indirekter Marker für eine ererbte Krankheitsempfänglichkeit gesehen werden.

Auch das verminderte relative Erkrankungsrisiko von 0,4 bis 0,5 bei HLA-B7-positiven insulinpflichtigen Diabetikern kann als bewiesen gelten (61, 63). Uneinheitliche Ergebnisse liegen vor über erhöhte Frequenzen anderer Antigene, in erster Linie HLA-B15, HLA-Cw3 und auch HLA-B18. So ist beispielsweise HLA-Cw3 bei Irvine et al. (54) und bei Ludvigson et al. (61) nicht signifikant häufiger nachgewiesen worden, obwohl Schernthaner et al. (91, 93) eine signifikante Frequenzerhöhung eindeutig gesichert haben. Die Auswahl des Patientenkollektivs und eine mögliche Heterogenität des untersuchten Krankheitsbildes könnten für die abweichenden Ergebnisse verantwortlich sein.

Verschiedene Untersuchungen, die neben der HLA-Typisierung auch die Bestimmung von Inselzellantikörpern, Insulinanti-

körpern, C-Peptid sowie anamnestische Daten berücksichtigt haben, deuten daraufhin, daß der insulinpflichtige Diabetes mellitus keine einheitliche Erkrankung darstellt. Der idiopathische insulinpflichtige Diabetes kann vermutlich in verschiedenen Formen mit spezieller Pathogenese unterteilt werden. Während Bottazzo und Doniach (17) zwei Formen gegeneinander abgrenzen, unterscheidet Irvine (53) die folgenden drei Typen:

Typ 1 a: Eine genetisch determinierte Veranlagung führt zu einer gegen die Inselzellen des Pankreas gerichteten Autoimmunreaktion.

Typ 1 c: Bei dieser Form ohne nachweisbare Autoimmunphänomene führt, ebenfalls genetisch determiniert, eine Virusinfektion oder ein anderes unbekanntes Agens zur Zerstörung des Inselzellapparates.

Typ 1 b: Dieser häufigste Typ ist eine Kombination von Typ 1 a und Typ 1 c.

Die verschiedenen Typen des insulinpflichtigen Diabetes treten nicht in jedem Lebensalter gleich häufig auf. Schernthaner et al. (91) haben in drei Altersgruppen differierende Frequenzerhöhungen der Antigene HLA-B8, HLA-B15 und HLA-Cw3 nachweisen können. Es ist vorstellbar, daß die verschiedenen Diabetesformen aus klinischer Sicht unterschiedliche Schweregrade im Verlauf aufweisen und die determinierenden Gene mit verschiedenen Genorten des HLA-Systems in Zusammenhang stehen.

5. Fragestellung

Die vorliegende Arbeit soll mit der Bestimmung der HLA-Phänotypen sowie der Erhebung klinischer und anamnestischer Daten bei kindlichen Diabetikern zur Klärung folgender Fragen beitragen:

1. Läßt sich die erhöhte Frequenz der Antigene HLA-B8 einerseits, HLA-B15 und HLA-Cw3 andererseits in dem hier untersuchten Diabetikerkollektiv bestätigen? Zeigen andere HLA-Antigene bei kindlichen insulinpflichtigen Diabetikern veränderte Häufigkeiten?

2. Bestehen altersabhängige Assoziationen zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem idiopathischen insulinpflichtigen Diabetes mellitus?

3. Gibt es Zusammenhänge zwischen einer besonderen Verlaufsform des Diabetes mellitus und bestimmten HLA-Antigenen?

4. Lassen sich in dem hier untersuchten Kollektiv mögliche Zusammenhänge zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem Monat der Diabetesmanifestation erkennen?

6. Eigene Untersuchungen

6.1 Material und Methodik

6.1.1 Patientengut

Es wurden die HLA-Phänotypen von 81 nicht verwandten insulinpflichtigen Diabetikern im Alter von 7 bis 27 Jahren (Durchschnittsalter 13,1 Jahre) bestimmt. Die Patienten waren zwischen dem 1. und 18. Lebensjahr erkrankt, im Mittel waren sie bei Krankheitsbeginn 7,3 Jahre alt. Sie befanden sich zur Einstellung ihres Diabetes oder auf Grund besonderer sozialer Verhältnisse vorübergehend oder dauernd im Diabetikerheim "Witthoh" (Ärztliche Leitung: Professor Dr. med. G. Winkler, Universität Ulm) der Arbeiterwohlfahrt (Bezirksverband Südwürttemberg-Hohenzollern, Geschäftsführer: W. Ulbert). Die Diagnose "Diabetes mellitus" wurde durch die zuweisenden Krankenhäuser - zumeist Universitätskliniken und größere Kreiskrankenhäuser - gestellt und im Heim bestätigt. Die Patienten waren mit einer Ausnahme dem europiden Rassenkreis zuzuordnen. Sie stammten aus dem Gebiet der Bundesrepublik Deutschland, überwiegend aus dem südwestdeutschen Raum. Ein Kind mit deutscher Mutter und afrikanischem Vater wurde bei der Auswertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt. Es wurden alle Diabetiker erfaßt, die sich zwischen August und Dezember 1976 in dem Diabetikerheim aufhielten.

6.1.2 Anamnestische und klinische Daten

Bei der Auswertung der im Diabetikerheim "Witthoh" vorliegenden ausführlichen Krankengeschichten wurden neben Geschlecht und Alter die folgenden Angaben einbezogen: Diabetes mellitus in der Familienanamnese, Kinderkrankheiten, andere bakterielle Infektionen, diabetische Folgeerkrankungen und andere begleitende Erkrankungen in der Eigenanamnese. Die im Laufe der Erkrankung verabfolgten Insulinpräparate wurden, soweit möglich, registriert. Bei

einigen Halb- und Vollwaisen mußte die Anamnese unvollständig bleiben.

Neben Gewicht und Körpergröße wurden einige spezielle klinische Angaben erfaßt: Nüchternblutzuckerwerte über 10 Tage, Nachweis einer Ketonurie innerhalb von drei Monaten, Auftreten von diabetischen Komata sowie die zum Zeitpunkt der Untersuchung benötigte Insulinmenge/die.

6.1.3 Blutgruppenbestimmung

Bei allen 81 juvenilen Diabetikern wurden im Routinelabor der Tübinger Abteilung für das Transfusionswesen in der üblichen Weise eine Blutgruppenbestimmung durchgeführt. Neben der Bestimmung der ABO-, Rhesus- und Kell-Blutgruppe wurde ein Antikörpersuchtest als 3-Stufen-Test durchgeführt. Da sich in keinem Falle ein Hinweis auf irreguläre Blutgruppenantikörper ergab, erübrigten sich weitere Tests zur Antikörperspezifizierung. Allen Patienten wurde ein Blutgruppenausweis ausgestellt.

6.1.4 HLA-Typisierung

In der Zeit von August 1976 bis Februar 1977 wurden die HLA-Phänotypen von 81 juvenilen Diabetikern untersucht. Dazu wurden aus ca. 10 ml defibriniertem Venenblut die Lymphocyten isoliert und die HLA-Antigene im Mikrolymphocytotoxizitätstest nach der NIH-Standardmethode (19) bestimmt. Der in der Tübinger Abteilung für das Transfusionswesen übliche Ablauf der Lymphocytenisolierung und HLA-Typisierung wurde bereits in zwei Dissertationen (21, 49) ausführlichst beschrieben. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich deshalb auf eine Zusammenfassung der Methodik:

Lymphocytenisolierung: 5 ml einer 16,79 %igen Urografinlösung werden mit 3 bis 4 ml defibriniertem Blut überschichtet. Nach 20minütiger Zentrifugation bei 3 000 rpm lassen sich die in einer Schicht zwischen Serum und Flotationsmittel dem Dichtegradienten entsprechend angesammelten Lymphocyten abpipettieren. Die isolierten Zellen werden dreimal

in Hanks-Tris-Waschlösung gewaschen (Zentrifugation je 5 min. bei 2 000 rpm) und anschließend in einer Suspension von ca. 2 000 Zellen/mm^3 weiterverarbeitet.

Mikrolymphocytotoxizitätstest: Je 1 ul der Lymphocytensuspension wird in vorbereiteten Mikrotestplatten (z. B. Falcon Mikrotest 3034 mit 72 Vertiefungen) mit je 1 ul gegen bekannte HLA-Spezifitäten gerichtetem Antiserum zur Reaktion gebracht. Dabei sind die Seren unter Parafinöl gegen Austrocknung geschützt. Nach 30 Minuten Inkubationszeit bei Zimmertemperatur werden je 5 ul Kaninchenkomplement zugegeben und die ganze Testplatte mit Parafinöl abgedeckt. Abhängig von der Raumtemperatur und der Qualität des Komplements werden nach 70 bis 100 Minuten die durch die abgelaufene Antigen-Antikörperreaktion getöteten Zellen bzw. Lymphocyten mit 5 ul Eosin (6 %ig in wässriger Lösung) gefärbt. Nach weiteren 5 Minuten wird mit 30 %igem säurefreien gefilterten Formalin die Reaktion abgebrochen. 2 bis 3 Stunden später sind die Lymphocyten so weit sedimentiert, daß unter dem umgekehrten Phasenkontrastmikroskop die semiquantitative Differenzierung heller lebender und dunkler toter Zellen vorgenommen werden kann. Üblicherweise wird das folgende Score-System zu Grunde gelegt:

Score 1: 0 - 10 % tote Zellen (negativ)
Score 2: 10 - 20 % tote Zellen (fraglich positiv)
Score 4: 20 - 40 % tote Zellen (schwach positiv)
Score 6: 40 - 70 % tote Zellen (positiv)
Score 8: 70 % tote Zellen (stark positiv)

Score 3: sehr wenig Zellen vorhanden, alle lebend
Score 5: sehr wenig Zellen vorhanden, alle tot.

Die HLA-Merkmale der getesteten Lymphocyten werden erkannt durch ihre positive Reaktion mit den bekannten gegen bestimmte Spezifitäten gerichteten Antiseren.

Ergänzend zum dargestellten Verfahren wurden für die vorliegende Untersuchung isolierte und gewaschene Lymphocyten in 10 %igem DMSO (Dimethylsulfoxid) eingefroren. Mit der von W. Schneider in Tübingen entwickelten Methode wurden die Zellen unter dauernder Bewegung in einem mit flüssiger Luft dosiert gekühltem Mittlermedium von +10°C auf -50°C mit einem Temperaturgradienten von 1°C/min. gefroren und anschließend bei -80°C aufbewahrt. Bei sorgfältiger Auftautechnik (im Wasserbad bei 37,0°C bis zur Verflüssigung, sofortiges mehrmaliges Waschen) ließen sich nach beliebiger Zeit mit den tiefgefrorenen Lymphocyten bei Wiederholungsuntersuchungen sehr gute Typisierungsergebnisse erreichen. Weiterhin wurden Serumproben aller Diabetiker bei -20°C und bei -80°C eingefroren, um später weiterführende Untersuchungen an demselben Patientenkollektiv zu ermöglichen.

Es wurden in dieser Untersuchung die folgenden 38 HLA-Antigene im Mikrolymphocytotoxizitätstest erfaßt:

1. Locus: HLA-A1, A2, A3, A9, A10, A11, Aw19, Aw23, A25, A26, A28, A29, Aw30, Aw31, Aw32,

2. Locus: HLA-B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, Bw16, B17, B18, Bw21, Bw22, B27, Bw35, B37, Bw38/39, B40, Bw41,

3. Locus: HLA-Cw1, Cw2, Cw3, Cw4, Cw5.

Die verwendeten Testseren hatten sich bei vorausgegangenen Testungen in sogenannten "V-Kammern" (Versuchskammern) zum Teil als "Sop-Sera" oder zumindest als zur Kategorie "gut" gehörig erwiesen.

Bei jedem Diabetiker wurde zunächst mit frischem, d. h. drei bis sechs Stunden alten Lymphocyten mit 144 genau bekannten und bei der Typisierung von Blutspendern bewährten HLA-Antiseren zweier Mikrotestplatten (L35, L36, später bei einigen Wiederholungsuntersuchungen L40, L41) ausgetestet. Bei unklarem Typisierungsergebnis wurde die Untersuchung mit Lymphocyten wiederholt, die bei -80°C konserviert worden waren. Zusätzlich zu den bereits bei der Erstuntersuchung benutzten Typisierungskammern wurde dann eine Testplatte (V47) mit 60 speziellen HLA-Antiseren herangezogen. Darunter waren auch einige der im Handel erhältlichen Antiseren der Firmen Ortho und Biotest. War das Ergebnis nach der 2. Wiederholung noch nicht eindeutig, wurde mit neu abgenommenem Blut eine weitere Typisierung durchgeführt. Dabei kamen in einigen seltenen Fällen mit spezieller Fragestellung zwei Mikrotestplatten (L38, L39) mit 109 Antiseren zum Einsatz, die der Tübinger Abteilung für das Transfusionswesen von Eurotransplant, Leiden, zur Verfügung gestellt worden waren.

Den Erfordernissen entsprechend wurden in den Wiederholungsuntersuchungen die Inkubationszeiten variiert und neben dem Kaninchenkomplement aus eigener Herstellung auch das im Handel erhältliche Komplement der Firma Biotest verwendet. Auf diese Weise gelang in allen Fällen eine befriedigende HLA-Typisierung. Bei 76 % der Untersuchungen konnten auf dem 1. und 2. Locus jeweils zwei HLA-Antigene nachgewiesen werden.

Bei 34 oder 80 Diabetiker gelang die Bestimmung des HLA-Phänotyps durch die erste Typisierung, bei 34 war eine Wiederholung notwendig, 8 Typisierungen wurden zweimal und je 2 Typisierungen drei- bzw. viermal wiederholt. Unklare Ergebnisse waren in einigen Fällen durch methodische Fehler bedingt, in den meisten Fällen jedoch durch fragliche Spezifitäten im Bereich des C-Locus.

Zur Erkennung der in dieser Untersuchung besonders interessierenden HLA-Antigene HLA-B8, HLA-B15, HLA-Cw3 und HLA-Cw5 wurden die folgenden HLA-Antiseren verwendet:

HLA-B8:	L35/55:	Schmid Maria 31.10.72	1:1
	L35/56:	Öller 676327 (Wien)	1:1
	L35/57:	448/S10	1:1
	L35/58:	Mondelli Rita 13.3.51	1:1
	L36/69:	S 249 (Kaiserslautern)	1:1
	L38/43:	004705.2 (Leiden)	1:1
	L38/44:	002360.9 (Leiden)	1:1
	L38/45:	022398.5 (Leiden)	1:1
	L40/58:	Hippolito	1:1
HLA-B15:	L36/09:	Marekovic 24.3.72	1:8
	L36/10:	Schlageter 13.1072	1:6
	L36/11:	Blees 13.10.72	1:6
	L36/12:	Topf (Wien)	1:1
	L36/13:	Ehmann 18.1.71	1:6
	L36/14:	Pfeffer 13.10.72	1:8
	L41/02:	Blees 1975	1:1
HLA-Cw3:	L36/57:	Vatter 13.10.72	1:3
	L36/58:	Pfeffer 18.11.72 (+Bw40)	1:1
	L36/59:	Spiegelgraber (Wien) (+B7)	1:1
	L36/63:	7231 (Ulm) (+Cw4)	1:1
HLA-Cw5:	L36/64:	Wanner 26.6.72	1:2
	L36/65:	Gairing 6.5.72 (+B12)	1:2
	L36/66:	Treml (Wien) (+B12)	1:2
	L41/65:	Wanner 17, 12, 76	1:1
	L41/67:	Gairing 1975 (+B12)	1:1

Aus Platzgründen wurden hier nicht erwähnt die übrigen verwendeten HLA-Antiseren der Typisierungskammern L35, L36, V 47, L38, L39, L40 und L41.

6.1.5 Vergleichskollektiv

Als Vergleichsgruppe für das 80 Patienten umfassende Diabetikerkollektiv dienten 347 347 Dauerblutspender der Tübinger Abteilung für das Transfusionswesen. Sie stammten aus einem Einzugsgebiet mit einem Radius von ca. 30 km. Ihre HLA-Phänotypen wurden im Jahr 1976 im HLA-Labor der Tübinger Blutzentrale bestimmt, mit derselben Methodik und größtenteils denselben HLA-Antiseren, wie sie bei den juvenilen Diabetikern verwendet worden sind.

6.2 Statistik

Es wurde die Häufigkeit der einzelnen HLA-Antigene im Diabetikerkollektiv mit der Kontrollgruppe verglichen. Dabei wurden Unterschiede mit dem Chi-Quadrat-Test auf ihre statistische Signifikanz getestet. Die folgende Formel (111) fand dabei Verwendung:

$$x^2 = \frac{(x_2 - \bar{p}n_2)^2 \, (n_1 + n_2)}{n_1 \, n_2 \, \bar{p} \, \bar{q}}$$

$$\text{dabei } \bar{p} = \frac{x_1 + x_2}{n_1 + n_2}$$

$$\text{und} \quad \bar{q} = 1 - \bar{p}$$

Erklärung der Symbole:

n_1: Anzahl der Vergleichspersonen (347)

n_2: Anzahl der Diabetiker (80)

x_1: Anzahl der Träger eines bestimmten HLA-Antigens unter den Vergleichspersonen (z. B. HLA-B8: 75)

x_2: Anzahl der Träger eines bestimmten HLA-Antigens unter den Diabetikern (z. B. HLA-B8: 33)

Die Signifikanzschranke p eines errechneten Wertes für Chi-Quadrat wurde aus den Geigy-Tabellen (45) entnommen. Zur Vermeidung falsch positiver Ergebnisse wurde bei Vergleichen zwischen dem Patientenkollektiv und der Kontrollgruppegruppe der erhaltene p-Wert noch, wie auf Seite 22 begründet, mit der Zahl der getesteten Antigene multipliziert (Pcorr.). Diese Korrektur wurde bei Vergleichen innerhalb des Diabetikerkollektivs nicht vorgenommen. Häufigkeitsunterschiede, die einen p-Wert bis 0,05 ergaben (5 % Irrtumswahrscheinlichkeit) wurden als statistisch gesichert angesehen.

Das relative Erkrankungsrisiko (RR, siehe Seite 20) wurde wie von Woolf (117) angegeben berechnet:

$$RR = \frac{h \cdot k}{H \cdot K}$$

dabei war h die Zahl der Diabetiker mit einem bestimmten HLA-Antigen,

k die Zahl der Diabetiker ohne dieses HLA-Antigen,

H die Zahl der Träger desselben HLA-Antigens in der Vergleichsgruppe und

K die Zahl der Vergleichspersonen ohne dieses HLA-Antigen.

6.3 Ergebnisse

6.3.1 Patientengut

Das 80 Diabetiker umfassende Untersuchungskollektiv se sich aus 54 männlichen und 26 weiblichen Patienten zus men. Bei mehreren Patienten lagen neben dem insulinpfli gen Diabetes Mißbildungserkrankungen vor: Mißbildung d Urogenitaltraktes (viermal), kongenitale Hüftgelenksdy plasie (zweimal) und kongenitale Pulmonalstenose und Noonan Syndrom (einmal).

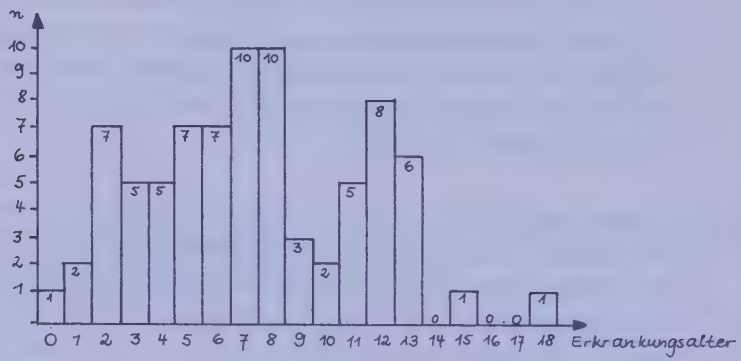
Andere chronische Begleiterkrankungen waren je einmal Coeliakie, Hypothyreose und Asthma bronchiale. Vier der 80 jugendlichen Patienten hatten bereits eine Hepatitis durchgemacht. 26 Patienten litten auffällig häufig unter rezidivierenden bakteriellen Infektionen (Tonsillitis, Sinusitis, Otitis media, Furunkulose und Harnwegsinfekte). Bei 6 Patienten war ein cerebrales Anfallsleiden bekannt, wobei die Frage einer möglichen symptomatischen Epilepsie ungeklärt blieb.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren die Patienten zwischen 7 und 27 Jahre alt; 63 waren 7 bis 15 Jahre und 17 waren 16 bis 27 Jahre alt. Die Manifestation des Diabetes mellitus lag zwischen 1 und 16 Jahren zurück. Bei 32 Kindern und Jugendlichen war die Erkrankung bereits länger als fünf Jahre bekannt. Die Altersverteilung bei Erkrankungsbeginn geht aus Abb. 3 hervor. Auffällig erschien der Rückgang der Erkrankungsfälle im 9. und 10. Lebensjahr, der auf eine Unterteilung des Gesamtkollektivs in zwei Gruppen von 0 bis 9 bzw. 10 bis 18 Jahre hindeutete.

Bei 61 der 80 Patienten ließ sich der Monat feststellen, in dem der Diabetes entdeckt wurde. Aus Abb. 4 ist die Verteilung der Erkrankungsfälle in der Zeit von Januar bis Dezember ersichtlich. Sie zeigt eine stetige Zunahme in der zweiten Jahreshälfte, wobei die maximale Häufigkeit

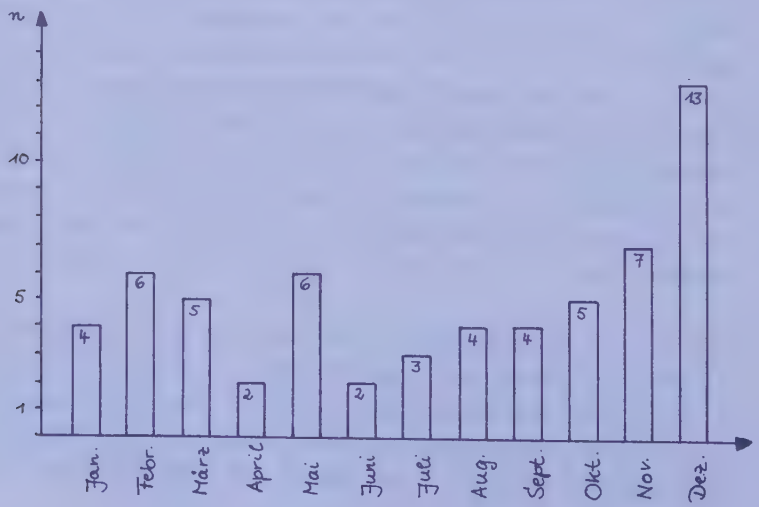
innerhalb des Jahres im Dezember erreicht wurde.

Abb. 3: Altersverteilung von 80 Diabetikern bei Erkrankungsbeginn



n: = Anzahl der Patienten
Erkrankungsalter: = Lebensalter in Jahren bei Erkrankungsbeginn.

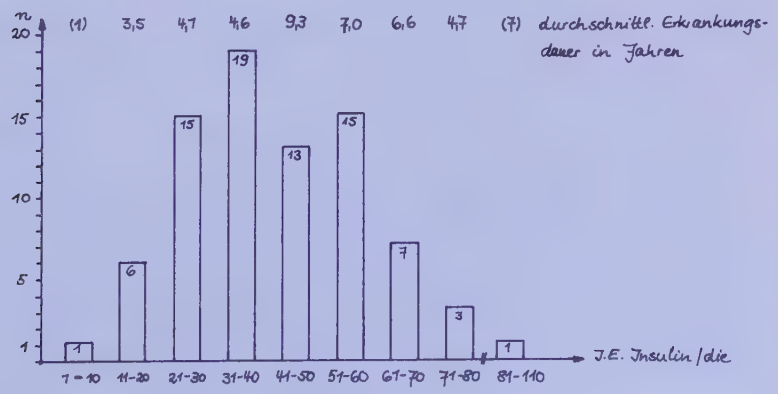
Abb. 4: Verteilung der Erkrankungsfälle in der Zeit von Januar bis Dezember (n = 61).



Der Diabetes mellitus wurde in nahezu allen Fällen als schwer einstellbar bezeichnet. 73 % der Patienten hatten meist mehrfach hypo- und hyperglykämische Komata in der Anamnese, 60 % wiesen innerhalb der letzten drei Monate vor dieser Untersuchung verschieden häufig eine Ketonurie auf.

Zur Einstellung ihres Diabetes erhielten die Patienten zweimal täglich Insulininjektionen, zumeist zwei verschieden lang wirksame Präparate in Kombination. Bei 41 Patienten waren zwischen 7 und 40 I.E. Insulin, bei 39 Patienten zwischen 41 und 102 I.E. Insulin pro Tag zur Einstellung erforderlich. In Abb. 5 wurde dargestellt, wie viele Patienten bestimmte Insulinmengen benötigen. In jeder Gruppe wurde die durchschnittliche Diabetesdauer in Jahren ermittelt. Im Laufe der Erkrankung waren bei einzelnen Patienten bis zu neun verschiedene Insulinpräparationen eingesetzt worden, 31 Patienten hatten bisher fünf und mehr unterschiedliche Insulinpräparate erhalten.

Abb. 5: Verteilung der Insulinmengen bei 80 Diabetikern.



Als diabetische Folgeerkrankung bestand bei 12 Patienten eine Retinopathie, bei 3 Patienten eine Nephropathie und bei einem Patienten eine diabetische Neuropathie. Eine Lipodystrophie war bei zwei Diabetikern bekannt, bei sechs Patienten lag eine sichere oder fragliche Insulinallergie vor.

In 28 Fällen (35 %) war ein Diabetes mellitus aus der Familienanamnese zu erfahren, in neun Fällen handelte es sich dabei um einen insulinpflichtigen Diabetes.

6.3.2 HLA-Antigenfrequenzen

Tabelle 5 zeigt für 38 HLA-Antigene die Antigenfrequenzen, die sich aus der Bestimmung der HLA-Phänotypen bei 80 insulinpflichtigen Diabetikern ergaben. Die Häufigkeiten der einzelnen Antigene wurden im Chi-Quadrat-Test mit dem Kontrollkollektiv verglichen. Nach Korrektur des p-Wertes durch Multiplikation mit der Zahl der getesteten Antigene (n = 38) ergab sich nur für HLA-B8 zwischen beiden Kollektiven ein signifikanter Unterschied (χ^2 = 13,27; $p < 0,0005$; $P_{corr.} < 0,019$). Bei der erhöhten Frequenz von HLA-B8 im Diabetikerkollektiv (41,3 % gegenüber 21,6 %) ließ sich für B8-positive Patienten ein relatives Erkrankungsrisiko von 2,55 berechnen. Nur knapp außerhalb der angenommenen statistischen Vertrauensgrenzen lag die im Diabetikerkollektiv erhöhte Frequenz von HLA-Cw5 (25,0 % gegenüber 11,5 %; χ^2 = 9,77). Andere Antigene, denen nach dem Studium der Literatur besondere Aufmerksamkeit galt, zeigten nach Korrektur des p-Wertes keine signifikanten Frequenzunterschiede: HLA-B7 (χ^2 = 3,69), HLA-B15 (χ^2 = 2,38), HLA-B18 (χ^2 = 3,64) und HLA-Cw3 (χ^2 = 5,08). Viermal (5 %) wurden bei demselben Patienten HLA-B8 und HLA-B15 gemeinsam nachgewiesen.

Tabelle 5: HLA-Antigenfrequenzen bei 80 Diabetikern und 347 Vergleichspersonen in abs. Zahlen (n) und Prozent (%)

HLA-	Diabetiker		Vergl.-Koll.		x^2	p	$P_{corr.}$	RR
	n	%	n	%				
A 1	28	35,0	111	32,0	0,27	n.s.	n.s.	--
A 2	46	57,5	181	52,2	0,74	n.s.	n.s.	--
A 3	21	26,3	102	29,4	0,31	n.s.	n.s.	--
A 9	21	26,3	55	15,9	4,81	<0,05	n.s.	--
A10	11	13,8	46	13,3	0,01	n.s.	n.s.	--
A11	5	6,9	32	9,2	0,73	n.s.	n.s.	--
Aw19	2	2,5	9	2,6	0,002	n.s.	n.s.	--
Aw23	2	2,5	4	1,2	0,85	n.s.	n.s.	--
A25	1	1,3	4	1,2	0,005	n.s.	n.s.	--
A26	0	0	14	4,0	3,34	n.s.	n.s.	--
A28	4	5,0	20	5,8	0,07	n.s.	n.s.	--
A29	3	3,8	22	6,3	0,79	n.s.	n.s.	--
Aw30	1	1,3	11	3,2	0,88	n.s.	n.s.	--
Aw31	3	3,8	19	5,5	0,40	n.s.	n.s.	--
Aw32	1	1,3	17	4,9	2,14	n.s.	n.s.	--

HLA-	Diabetiker		Vergl.-Koll.		X^2	p	$P_{corr.}$	RR
	n	%	n	%				
B5	10	12,5	52	15,0	0,32	n.s.	n.s.	--
B7	13	16,3	92	26,5	3,69	n.s.	n.s.	--
B8	33	41,3	75	21,6	13,27	<0,0005	<0,019	2,55
B12	13	16,3	76	21,9	1,26	n.s.	n.s.	--
B13	2	2,5	22	6,3	1,81	n.s.	n.s.	--
B14	9	11,3	17	4,9	4,58	<0,05	n.s.	--
B15	16	20,0	46	13,3	2,38	n.s.	n.s.	--
Bw16	5	6,3	12	3,5	1,33	n.s.	n.s.	--
B17	0	0	14	4,0	3,34	n.s.	n.s.	--
B18	15	18,8	38	11,0	3,64	n.s.	n.s.	--
Bw21	1	1,3	12	3,5	1,07	n.s.	n.s.	--
Bw22	2	2,5	13	3,8	0,30	n.s.	n.s.	--
B27	7	8,8	32	9,2	0,02	n.s.	n.s.	--
Bw35	12	15,0	64	18,4	0,53	n.s.	n.s.	--
B37	0	0	4	1,2	0,93	n.s.	n.s.	--
Bw38/39	6	7,5	11	3,2	3,19	n.s.	n.s.	--
B40	6	6,3	42	12,1	2,27	n.s.	n.s.	--
Bw41	4	5,0	4	1,2	5,23	<0,025	n.s.	--

HLA-	Diabetiker		Vergl.-Koll.		χ^2	p	$P_{corr.}$	RR
	n	%	n	%				
Cw1	7	8,8	20	5,8	0,98	n.s.	n.s.	--
Cw2	1	1,3	8	2,3	0,35	n.s.	n.s.	--
Cw3	26	32,5	72	20,8	5,08	<0,025	n.s.	--
Cw4	13	16,3	59	17,0	0,03	n.s.	n.s.	--
Cw5	20	25,0	40	11,5	9,77	<0,005	n.s.	(2,56)

Erläuterungen zu Tabelle 5:

n: Anzahl der Probanden
Vergl.-Koll.: Vergleichskollektiv (n=347)
RR: relatives Erkrankungsrisiko
n.s.: kein signifikanter Unterschied
$P_{corr.}$: p-Wert, multipliziert mit der Zahl der getesteten Antigene (n = 38).

6.3.3 HLA-Antigenfrequenzen ausgewählter Gruppen

a) Retinopathien und Nephropathien:
Die Häufigkeit der Antigene HLA-B7, HLA-B8, HLA-B15, HLA-B18, HLA-Cw3 und HLA-Cw5 bei 13 Patienten mit diabetischer Retinopathie und bzw. oder Nephropathie (Gruppe I) wurde mit dem Kontrollkollektiv und den übrigen Diabetikern (Gruppe II) verglichen (siehe Tabelle 6).

Es fanden sich beim Vergleich bei der Diabetikergruppen mit dem Kontrollkollektiv für HLA-B8 und HLA-Cw5 erhöhte

Frequenzen, die nach Korrektur des p-Wertes nur noch für HLA-B8 in der Gruppe II gegenüber dem Kontrollkollektiv statistisch signifikant war ($P_{corr.} \simeq 0{,}038$).

Auffälligerweise wurde in der Gruppe der 13 Patienten mit klinisch manifester diabetischer Mikroangiopathie HLA-B15 überhaupt nicht nachgewiesen. Im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv ließ sich statistisch kein Unterschied sichern ($\chi^2 = 1{,}97$), im Vergleich mit den übrigen Diabetikern ergab sich jedoch eine signifikant verminderte Häufigkeit ($p < 0{,}05$). In der Gruppe II schien HLA-B15 ebenso wie HLA-Cw3 gegenüber dem Kontrollkollektiv häufiger vorzukommen (HLA-B15: $\chi^2 = 4{,}98$; HLA-Cw3: $\chi^2 = 7{,}16$); die korrigierten p-Werte waren nicht signifikant.

Der auffälligste Häufigkeitsunterschied wurde für HLA-B18 nachgewiesen. Im Vergleich zum Kontrollkollektiv kam HLA-B18 bei den Patienten mit Mikroangiopathie deutlich häufiger vor: 38,5 % gegenüber 11,0 % ($\chi^2 = 9{,}02$; $p < 0{,}005$; $P_{corr.}$ n.s.). Im Vergleich zwischen den Gruppen I und II war für HLA-B18 eine signifikante Differenz zu verzeichnen ($p < 0{,}05$).

Durchschnittlich erkrankten die Diabetiker der Gruppe I im Alter von 4,4 Jahren (keiner nach dem 8. Lebensjahr), die Diabetiker der Gruppe II im Alter von 7,9 Jahren. Erwartungsgemäß war die durchschnittliche Krankheitsdauer in Gruppe I mit 11,4 Jahren deutlich länger als in Gruppe II (4, 6 Jahre).

Tabelle 6: HLA-Antigenfrequenzen bei Diabetikern mit Mikroangiopathie

HLA-Antigen	Gruppe I n	%		Gruppe II n	%		Vergl.-Kollek. n	%	
HLA-B7	4	30,8		9	13,4		92	26,5	
HLA-B8	6	46,2	a)	27	40,3	b)	75	21,6	c)
HLA-B15	0	0	d)	16	23,9	e)	46	13,3	f)
HLA-B18	5	38,5	g)	10	14,9	h)	38	11,0	i)
HLA-Cw3	2	15,4		24	35,8	j)	72	20,8	k)
HLA-Cw5	4	30,8	l)	16	23,9	m)	40	11,5	n)

a) bis n): Berechnung der statistischen Unterschiede

a : c	$\chi^2 \approx 4{,}33$	$p < 0{,}05$	$P_{corr.}$ n.s.
b : c	$\chi^2 = 10{,}56$	$p \simeq 0{,}001$	$P_{corr.} \simeq 0{,}038$
d : e	$\chi^2 = 3{,}88$	$p < 0{,}05$	
e : f	$\chi^2 = 4{,}98$	$p < 0{,}025$	$P_{corr.}$ n.s.
g : i	$\chi^2 = 9{,}02$	$p < 0{,}005$	$P_{corr.}$ n.s.
g : h	$\chi^2 = 3{,}97$	$p < 0{,}05$	
j : k	$\chi^2 = 7{,}16$	$p < 0{,}01$	$P_{corr.}$ n.s.
l : n	$\chi^2 = 4{,}32$	$p < 0{,}05$	$P_{corr.}$ n.s.
m : n	$\chi^2 = 7{,}32$	$p < 0{,}01$	$P_{corr.}$ n.s.

Erläuterungen:

Gruppe I: 10 Diabetiker mit Retinopathie, 1 Diabetiker mit Nephropathie, 2 Diabetiker mit Retinopathie und Nephropathie (n = 13)

Gruppe II: Übrige Diabetiker (n = 67)
Vergl.-Koll.: Vergleichskollektiv (n = 347)
n: Anzahl der Probanden
n.s.: Kein signifikanter Unterschied
$P_{corr.}$: p-Wert multipliziert mit der Zahl der getesteten Antigene (38).

b) Erkrankungsalter

Eine Unterteilung des Diabetikerkollektivs nach dem Erkrankungsalter in zwei Altersgruppen von 0 bis 9 Jahre (Gruppe III) und von 10 bis 18 Jahre (Gruppe IV) ergab sich aus Abb. 3 (Seite 58). In Tabelle 7 wurde für diese beiden Altersgruppen die Häufigkeit der bereits im vorangegangenen Abschnitt berücksichtigten HLA-Antigene einander gegenübergestellt.

Die Häufigkeitsunterschiede zwischen den Gruppen III und IV waren für alle sechs Antigene nicht signifikant. Das Vorkommen von HLA-B8 und Cw5 in der Gruppe der bis zum 9. Lebensjahr erkrankten Kinder (HLA-B8: 45,6 %; HLA-Cw5: 28,1 %) war im Vergleich zum Kontrollkollektiv (HLA-B8: 21,6 %; HLA-Cw5: 11,5 %) signifikant erhöht (HLA-B8: $P_{corr.} < 0{,}019$; HLA-Cw5: $P_{corr.} < 0{,}038$). Das relative Erkrankungsrisiko konnte in diesem Fall für HLA-B8 mit 3,04 und für HLA-Cw5 mit 2,99 berechnet werden. Der entsprechende Vergleich für die nach dem 9. Lebensjahr erkrankten Diabetiker ergab keine signifikanten Werte.

Die gegenüber dem Vergleichskollektiv verminderte Frequenz von HLA-B7 in Gruppe III ($\chi^2 = 4{,}09$) war nach Korrektur des p-Wertes nicht signifikant. Ebenso war die mit 26,1 % gegenüber 11,0 % erhöhte Frequenz von HLA-B18 in Gruppe IV ($\chi^2 = 4{,}19$) nach der Korrektur nicht signifikant. Der Vergleich der Häufigkeit von HLA-Cw3 in der Gruppe IV und im Vergleichskollektiv erbrachten mit $\chi^2 = 4{,}26$ ebenfalls kein sicheres Ergebnis.

c) Erkrankungsmonat

Aus Abb. 4 (Seite 58) ergab sich für 61 der hier untersuchten Diabetiker die aus der Literatur bekannte ungleichmäßige Verteilung der Erkrankungsfälle innerhalb des Jahres. Entsprechend der Einteilung in anderen Untersuchungen (9, 87) wurden die HLA-Phänotypen von 35 Diabetikern 57 %) die in der Zeit zwischen Oktober und Februar erkrankt waren (Gruppe V) mit den HLA-Phänotypen der 26 (43 %) in der übrigen Zeit des Jahres erkrankten insulinpflichtigen Diabetiker (Gruppe VI) verglichen (siehe Tabelle 8, Seite 69).

Die prozentuale Häufigkeit der sechs berücksichtigten HLA-Antigene lag in den Gruppen V und VI eng beieinander. Im Vergleich der Gruppen untereinander sowie mit dem gesamten Patientenkollektiv ergaben sich keine statistisch signifikanten Differenzen. Der einzige herausfallende Wert war die Häufung des HLA-B8 in der Gruppe der zwischen März und September erkrankten Diabetiker, die jedoch nur gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht war ($\chi^2 = 17{,}20$; $P_{corr.} < 0{,}019$). Die Frequenz des HLA-B8 in der Gruppe V war bei $\chi^2 = 10{,}18$ erwartungsgemäß erhöht, der korrigierte p-Wert lag nur knapp außerhalb der gesetzten Vertrauensgrenzen.

Die gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöhte Frequenz des HLA-Cw5 in Gruppe V konnte bei $\chi^2 = 10{,}88$ statistisch gesichert werden ($P_{corr.} \simeq 0{,}038$). Die Häufigkeit des HLA-Cw5 in Gruppe VI war weder im Vergleich mit der Gruppe V noch mit dem Kontrollkollektiv signifikant unterschiedlich.
Die Untersuchung der Zahl der HLA-B8-positiven sowie der HLA-Cw5-positivenDiabetiker in den einzelnen Erkrankungsmonaten ergab in den kleinen Gruppen (n = 31 bzw. n = 16) keine verwertbaren Anhaltspunkte.

Tabelle 7: HLA-Antigenfrequenzen bei Diabetikern, die vor bzw. nach dem 9. Lebensjahr erkrankt waren.

HLA-Antigen	Gruppe III n	%	Gruppe IV n	%	Vergl.-Kollek. n	%
HLA-B7	8	14,0 a)	5	21,7	92	26,5 b)
HLA-B8	26	45,6 c)	7	30,4	75	21,6 d)
HLA-B15	11	19,3	5	21,7	46	13,3
HLA-B18	9	15,8	6	26,1 e)	38	11,0 f)
HLA-Cw3	17	29,8	9	39,1 g)	72	20,8 h)
HLA-Cw5	16	28,1 i)	4	17,4	40	11,5 j)

a) bis j): Berechnung der statistischen Unterschiede

a : b	$\chi^2 = 4,09$	$p < 0,05$	$P_{corr.}$ n.s.
c : d	$\chi^2 = 15,04$	$p < 0,0005$	$P_{corr.} < 0,019$
e : f	$\chi^2 = 4,19$	$p < 0,05$	$P_{corr.}$ n.s.
g : h	$\chi^2 = 4,26$	$p < 0,05$	$P_{corr.}$ n.s.
i : j	$\chi^2 = 11,22$	$p < 0,001$	$P_{corr.} < 0,038$

Erläuterungen:

Gruppe III: Diabetiker, die bis zum 9. Lebensjahr erkrankt waren (n = 57).

Gruppe IV: Diabetiker, die zwischen dem 10. und 18. Lebensjahr erkrankt waren (n = 23).

Alle übrigen Abkürzungen siehe Seite 65/66 (bei Tabelle 6).

Tabelle 8: HLA-Antigenfrequenzen bei Patienten, deren Diabetes mellitus in den Monaten Oktober bis Februar bzw. März bis September entdeckt wurde.

HLA-Antigen	Gruppe V n	%		Gruppe VI n	%		Diabetiker n	%	Vergl.-K. n	%	
HLA-B7	5	14,3		5	19,2		13	16,3	92	26,5	
HLA-B8	16	45,7	a)	15	57,7	b)	33	41,3	75	21,6	c)
HLA-B15	8	22,9		6	23,1		16	20,0	46	13,3	
HLA-B18	6	17,1		5	19,2		15	18,8	38	11,0	
HLA-Cw3	10	28,6		6	23,1		26	32,5	72	20,8	
HLA-Cw5	11	31,4	d)	5	19,2	e)	20	25,0	40	11,5	f)

a) bis f): Berechnung der statistischen Unterschiede

a : c	$\chi^2 = 10{,}18$	$p < 0{,}005$	$P_{corr.}$ n.s.
b : c	$\chi^2 = 17{,}20$	$p < 0{,}0005$	$P_{corr.} < 0{,}019$
d : f	$\chi^2 = 10{,}88$	$p \simeq 0{,}001$	$P_{corr.} \simeq 0{,}038$
e : f	$\chi^2 = 1{,}35$	p n.s.	

Erläuterungen:

Gruppe V: Diabetiker, deren Erkrankung in den Monaten von Oktober bis Februar entdeckt wurde (n = 35).
Gruppe VI: Diabetiker, deren Erkrankung in den Monaten von März bis September entdeckt wurde (n = 26).
Diabetiker: n = 80

Alle übrigen Abkürzungen siehe Seite 65/66 bei Tabelle 6.

d) Insulinmengen

In Abb. 5 (Seite 59) wurden die bei 80 Patienten zur Diabeteseinstellung benötigten Insulinmengen dargestellt. Nach klinischer Erfahrung ist damit zu rechnen, daß oberhalb einer täglichen Insulinmenge von ungefähr 40 I.E. der Insulinbedarf nicht mehr allein durch die verminderte B-Zell-Funktion des Pankreas bestimmt wird, sondern auch durch zusätzliche Faktoren wie beispielsweise Antikörperbildung gegen Insulin, Verzögerer- oder Konservierungssubstanzen. Da Zusammenhänge zwischen der Fähigkeit zur Insulinantikörperbildung und bestimmten HLA-Antigenen diskutiert wurden (65, 90), erschien es sinnvoll, das hier untersuchte Diabetikerkollektiv in zwei Gruppen einzuteilen, die unter 41 (Gruppe VII) bzw. über 50 (Gruppe VII) I.E. Insulin pro Tag erhielten (siehe Tabelle 9). Diejenigen Patienten, die 41 bis 50 I.E. Insulin pro Tag injiziert bekamen, wurden nicht einbezogen, um Überschneidungen zwischen beiden Gruppen möglichst gering zu halten.

Der Vergleich der Gruppen VII und VIII untereinander ergab nur für HLA-B18 (9,8 % gegenüber 30,8 %) einen signifikanten Unterschied ($\chi^2 = 4{,}78$; $p < 0{,}05$), wobei die gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöhte Frequenz des HLA-B18 in Gruppe VII nach Korrektur des p-Wertes nicht signifikant war ($\chi^2 = 5{,}53$; $P_{corr.}$ n.s.). Das auffallend seltene Vorkommen von HLA-B7 in der Gruppe VII (9,8 %) war im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv (26,5 %) ebenfalls nicht signifikant ($\chi^2 = 5{,}53$; $P_{corr.}$ n.s.). Die erhöhte Frequenz von HLA-Cw5 in der Gruppe VII konnte hingegen im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv statistisch gesichert werden ($\chi^2 = 15{,}66$; $P_{corr.} < 0{,}019$). Die Untersuchung der Häufigkeiten von HLA-Cw3 und HLA-Cw5 in der zahlenmäßig kleinen Gruppe VIII und im Kontrollkollektiv brachte keine sicheren Ergebnisse.

Tabelle 9: HLA-Antigenfrequenzen bei Patienten, die zur Einstellung ihres Diabetes mellitus unter 41 bzw. über 50 I.E. Insulin pro Tag erhielten.

HLA-Antigen	Gruppe VI n	%	Gruppe VIII n	%	Vergl.-Koll. n	%
HLA-B7	4	9,81 a)	5	19,2	92	26,5 b)
HLA-B8	18	43,9	11	42,3	75	21,6
HLA-B15	7	17,1	7	26,9	46	13,3
HLA-B18	4	9,8 c)	8	30,8 d)	38	11,0 e)
HLA-Cw3	12	29,3	10	38,5 f)	72	20,8 g)
HLA-Cw5	14	34,2 h)	7	26,9 i)	40	11,5 j)

a) bis j): Berechnung der statistischen Unterschiede

a : b	$\chi^2 = 5,53$	$p < 0,025$	$P_{corr.}$ n.s.
c : d	$\chi^2 = 4,78$	$p < 0,05$	
d : e	$\chi^2 = 8,78$	$p < 0,005$	$P_{corr.}$ n.s.
f : g	$\chi^2 = 4,42$	$p < 0,05$	$P_{corr.}$ n.s.
h : j	$\chi^2 = 15,66$	$p < 0,0005$	$P_{corr.} < 0,019$
i : j	$\chi^2 = 5,21$	$p < 0,025$	$P_{corr.}$ n.s.

Erläuterungen:

Gruppe VII: Patienten, deren Diabetes mellitus mit bis zu 40 I.E. Insulin pro Tag eingestellt war (n = 41).

Gruppe VIII: Patienten, deren Diabetes mellitus mit 51 bis 102 I.E. Insulin pro Tag eingestellt war (n = 26).

7. Diskussion

7.1 Betrachtung einzelner HLA-Antigenfrequenzen

7.1.1 HLA-B8, B15, Cw3 und B7

Die aus zahlreichen Untersuchungen der letzten 5 Jahre bekannte erhöhte Frequenz des HLA-B8 bei europiden Patienten mit einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus (siehe Tabelle 4) kann in dem hier untersuchten Diabetikerkollektiv ebenfalls nachgewiesen werden (41,3 % gegenüber 21,6 %; $\chi^2 = 13,27$; $p < 0,019$). Dabei liegt das relative Erkrankungsrisiko (RR) für B8-positive Patienten mit 2,55 zwischen den von anderen Autoren mit 1,9 bis 4,0 angegebenen Werten.

Der Nachweis veränderter Frequenzen anderer HLA-Antigene beim insulinpflichtigen Diabetes mellitus hängt nicht nur von der Größe des Patienten- und des Vergleichskollektivs ab, sondern auch entscheidend von der Auswahl des Patientengutes, da der insulinpflichtige Diabetes ein unterteilbares Krankheitsbild mit pathogenetisch unterschiedlichen Formen ist (53). Vergleiche der bekannten Untersuchungen zeigen, daß in den verschiedenen Diabetikerkollektiven das Erkrankungsalter der Patienten sehr unterschiedlich ist. Die hier untersuchten Diabetiker sind bei Erkrankungsbeginn im Mittel 7,3 Jahre (0 bis 18 Jahre) alt gewesen. Ludvigson et al. (61) haben bei der HLA-Typisierung von bei Erkrankungsbeginn 1 bis 16 Jahre alten (im Mittel 7,1 Jahre) insulinpflichtigen Diabetikern für die erhöhte Frequenz von HLA-B8 ein relatives Erkrankungsrisiko von 2,64 errechnet - ein Wert, der sich auffallend wenig von dem hier untersuchten Kollektiv (RR = 2,55) unterscheidet. Ebenso wie in der vorliegenden Arbeit sind von Ludvigson et al. (61) für HLA-B15 und Cw3 keine signifikant veränderten Frequenzen gefunden worden. Auch Barta et al. (11) haben bei vor dem 15. Lebensjahr erkrankten Diabetikern keine gesicherte Frequenzerhöhung für HLA-B15 nachweisen können. Die ver-

mehrte Häufigkeit von HLA-B15 ist bei Patienten gesichert worden, deren Diabetes vor dem 45., 40. oder 30. Lebensjahr manifest geworden ist (32, 78, 93). Daraus ergibt sich die Vorstellung, daß neben einer HLA-B8-assoziierten Form des Diabetes bei kindlichen Diabetikern (0 bis 14 Jahre, WHO) vermutlich eine zusätzlich mit HLA-B15 assoziierte Form existiert, die erst in späteren Lebensjahren manifest wird. Schernthaner und Ludwig mit Mitarbeitern (64, 91) haben die Assoziation von HLA-B15 und Cw3 mit dem insulinpflichtigen Diabetes in der Gegenüberstellung von zwischen 0 und 15 Jahren sowie zwischen 16 und 29 Jahren erkrankten Patienten differenzieren können. Dabei ist die Häufigkeit von HLA-B15 und Cw3 in der Gruppe der in früheren Lebensjahren erkrankten Diabetiker gegenüber dem Vergleichskollektiv praktisch nicht verändert, bei den nach dem 15. Lebensjahr erkrankten Patienten jedoch deutlich erhöht gewesen.

Es ist erwähnenswert, daß die signifikant höhere bzw. erhöhte Frequenz von HLA-Cw3 bisher nur von der Wiener Arbeitsgruppe nachgewiesen worden ist (64, 91, 93), obwohl auch zwei andere Arbeitsgruppen bei ihren Typisierungen HLA-Cw3 getestet haben (54, 61). Diese differierenden Ergebnisse könnten wiederum durch die Auswahl der Patienten bedingt sein: Inselzellantikörper-positive Patienten im einen Fall (54), früh erkrankte Diabetiker im anderen Fall (61). In der vorgelegten Untersuchung scheint zwar HLA-Cw3 mit 32,5 % gegenüber 20,8 % häufiger als im Vergleichskollektiv vorzukommen. Bei $\chi^2 = 5{,}08$ ergibt der korrigierte p-Wert jedoch keine statistische Signifikanz, so daß die beobachtete Häufigkeit hier allenfalls als Tendenz ausgelegt werden kann. Eine ähnliche Tendenz wird bei Irvine et al. (54) für HLA-Cw3 neben HLA-B15 und Aw24 bei Inselzellantikörper-negativen Patienten angegeben.

Hinsichtlich der Frequenzen von HLA-B8, B15 und Cw3 entsprechen die vorgelegten Ergebnisse denen der Literatur.

Die aus einer zusammenfassenden Darstellung (63) und den Untersuchungen von Cudworth and Woodrow (32) bekannte verminderte Frequenz von HLA-B7 ist in dem mit den hier untersuchten Patienten gut vergleichbaren Diabetikerkollektiv von Ludvigson et al. (61) im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit gesichert worden. Mit $\chi^2 = 3,67$ ist es hier ebenso wenig wie bei Schernthaner et al. (64) ($\chi^2 = 6,1$) möglich gewesen, die verminderte Frequenz von HLA-B7 (16 % bzw. 14 % gegenüber 26 % im Vergleichskollektiv) statistisch zu sichern.

7.1.2 HLA-Cw5 und HLA-B18

Die mit 25,0 % gegenüber 11,5 % im Vergleichskollektiv unerwartet hohe Häufigkeit von HLA-Cw5 bei den hier untersuchten Diabetikern ist auch im statistischen Vergleich auffällig: $\chi^2 = 9,77$ und $p < 0,005$ scheinen auf einen nicht mehr zufallsbedingten Häufigkeitsunterschied hinzudeuten, wenn auch der durch Multiplikation mit der Zahl der getesteten Antigene korrigierte p-Wert ($P_{corr.} < 0,19$) außerhalb der gesetzten Signifikanzschranke liegt. Das relative Erkrankungsrisiko von Cw5-positiven Patienten unterscheidet sich mit 2,56 kaum von dem für B8-positive Patienten ermittelten Wert (2,55). Der Vergleich mit der Literatur ist nur bedingt möglich, da die HLA-Antigene des C-Locus nur von wenigen Arbeitsgruppen in die Untersuchungen einbezogen worden sind. Die Spezifität HLA-Cw5 ist von Schernthaner et al. (64, 91, 93) bei Diabetikern getestet worden; über auffällige Frequenzänderungen von HLA-Cw5 wird dabei nicht berichtet. Irvine et al. (54) haben bei ihren Typisierungen ebenfalls HLA-Cw5 getestet und dabei für dieses Antigen einen möglichen Zusammenhang mit abfallenden Inselzellantikörpertitern bei einer Verlaufsbeobachtung von 29 Diabetikern gefunden. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, durch Einengung des gesamten Patientenkollektivs auf eine hinsichtlich des Diabetes möglichst homogene Gruppe die unklare Rolle des HLA-Cw5 näher zu untersuchen.

Die isolierte Betrachtung von 13 Patienten mit nachgewiesener diabetischer Mikroangiopathie erlaubt trotz einer auf 30,8 % erhöhten Häufigkeit von HLA-Cw5 keine statistische Sicherung. Der Häufigkeitsunterschied im Vergleich mit den Diabetikern ohne manifeste Zeichen der Mikroangiopathie und dem Kontrollkollektiv ist nicht signifikant.

Der Diabetes der Patienten mit Retinopathie und/oder Nephropathie ist in jedem Falle vor dem 9. Lebensjahr manifest geworden (mittleres Erkrankungsalter 4,4 Jahre). Es könnte dabei nicht nur die mögliche Selektion in dem hier untersuchten Kollektiv durch die nach dem Alter begrenzte Aufnahme in das Diabetikerheim und die längere Erkrankungsdauer bei Diabetikern mit Gefäßkomplikationen eine Rolle spielen, sondern auch die seit einiger Zeit vermutete genetische Prädisposition einzelner Patienten für die Entwicklung der Mikroangiopathie (37, 98). Weiterhin ist aufgefallen, daß die Verteilung des Erkrankungsalters in dem hier untersuchten Diabetikerkollektiv nicht gleichmäßig ist, sondern zwischen zwei Maxima um das 7. und 8. bzw. 12. und 13. Lebensjahr eine auffallend geringe Erkrankungshäufigkeit im 9. und 10. Lebensjahr zeigt. Diese Erwägungen sowie die klinische Erfahrung (56 a, 100 a, 100 b, 100 c), die die Häufung der Erkrankungsfälle in den genannten Altersabschnitten bestätigt, haben hier die Unterteilung des Diabetikerkollektivs in zwei Altersgruppen begründet.

Es zeigt sich (Tabelle 7), daß in der Gruppe der 57 bis zum 9. Lebensjahr erkrankten Diabetiker die mit 28,1 % erhöhte Häufigkeit von HLA-Cw5 im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv (11,5 %) auch nach Korrektur des p-Wertes statistisch signifikant ist (χ^2 = 11,22; $P_{corr.}$ 0,038). In dieser Gruppe entspricht wiederum das relative Erkrankungsrisiko von B8-positiven Patienten mit 3,04 dem Wert von 2,99, der für Cw5-positive Patienten errechnet worden ist. In der Gruppe der nach dem 9. Lebensjahr erkrankten Diabetiker besteht hingegen für die Häufigkeit von HLA-Cw5 keine signifikante Differenz gegenüber dem Vergleichskollektiv.

In zwei weiteren Gruppierungen, die im vorangegangenen Kapitel begründet wurden, fällt die erhöhte Frequenz von HLA-Cw5 auf (Tabellen 8 und 9): HLA-Cw5 ist bei 35 in den Wintermonaten erkrankten Diabetikern gegenüber dem Vergleichskollektiv signifikant häufiger nachgewiesen worden ($\chi^2 = 10,88$; $P_{corr.} \simeq 0,038$); weiterhin ist der Häufigkeitsunterschied von HLA-Cw5 bei Patienten, deren Diabetes mit bis zu 40 I.E. Insulin pro Tag einzustellen war, gegenüber dem Vergleichskollektiv ebenfalls signifikant ($\chi^2 = 15,66$; $P_{corr.} < 0,019$).

Der Vergleich der Häufigkeit von HLA-Cw5 innerhalb der drei hier getroffenen Gruppierungen ergibt in keinem Fall eine signifikante Differenz, die zu erwarten wäre, falls eine eindeutige Zuordnung zu einer bestimmten Form des Diabetes möglich ist. Es könnten hier nicht die richtigen Zusammenhänge aufgestellt worden sein oder die Anzahl der Patienten innerhalb der Gruppen für eine gesicherte Aussage zu klein gewesen sein. Die hier eher erniedrigte Frequenz von HLA-B12 (16,3 % gegenüber 24,9 %), das mit HLA-Cw5 im Kopplungsungleichgewicht steht, deutet auf die Eigenständigkeit der für HLA-Cw5 gefundenen Veränderungen hin. Da die Antigenfrequenz für HLA-Cw5 im Vergleichskollektiv (11,5 %), das mit denselben Antiseren wie das Diabetikerkollektiv getestet worden ist, zwischen der von Irvine et al. (54) (14,0 %) und Mayer (69) (8,8 %) angegebenen normalen Frequenz liegt, erscheint ein methodischer Fehler unwahrscheinlich.

Eine Überprüfung des hier diskutierten Sachverhaltes an einem größeren Kollektiv erscheint sinnvoll. Dabei könnte die Untersuchung von Diabetikern mit einem frühen, eng beieinanderliegenden Erkrankungsalter oder von Patienten mit den klinisch manifesten Zeichen der diabetischen Mikroangiopathie am ehesten Aufschluß bringen.

Ein weiteres Antigen, HLA-B18, zeigt in den oben dargestellten Gruppierungen des Patientenkollektivs eine veränderte Häufigkeit. Eine erhöhte Frequenz von HLA-B18 bei Insulinpflichtigen Diabetikern ist von anderen Autoren bereits mehrfach beschrieben worden (22, 32, 37, 74). Von Cudworth and Woodrow (32) wird HLA-B18 in der Diskussion neben die mit dem insulinpflichtigen Diabetes assoziierten HLA-Antigene B8 und B15 gestellt, eine besondere Zuordnung von HLA-B18 wird nicht getroffen. Cathelineau et al. (22) berichten über eine signifikant vermehrte Häufigkeit von HLA-B8 und B18 bei 90 insulinpflichtigen Diabetikern, wobei die Häufung von HLA-B18 besonders bei vor dem 30. Lebensjahr erkrankten Diabetikern zu finden gewesen ist. Eine weitere französische Arbeitsgruppe, Mirouze et al. (74), weist ebenfalls eine erhöhte Frequenz von HLA-B18 bei insulinpflichtigen Diabetikern nach. Da die Ergebnisse der beiden Untersuchungen aus Frankreich für HLA-B15 keine Frequenzänderung gezeigt haben, wie es zu erwarten gewesen wäre, hat es die Überlegung gegeben, daß HLA-B18 in Mittel- und Südfrankreich auf Grund von Variationen des HLA-Systems innerhalb der Unterformen des europiden Rassenkreises an Stelle von HLA-B15 mit dem insulinpflichtigen Diabetes assoziiert sein könnte. Aber auch in der dänischen Bevölkerung ist kürzlich eine erhöhte Frequenz von HLA-B18 bei juvenilen Diabetikern ohne Retinopathie nachgewiesen worden (37). Dabei hat es sich um eine vergleichende Untersuchung von Diabetikern mit ($n = 15$) und ohne ($n = 25$) proliferative Retinopathie gehandelt. Die Befunde der vorliegenden Arbeit stehen im Widerspruch zum Ergebnis der o.g.Arbeit: Egeberg et al. (37) berichten über eine veränderte Frequenz von HLA-B18 bei Patienten ohne Retinopathie; in der vorgelegten Arbeit ist statt dessen HLA-B18 in der Gruppe der Patienten mit Mikroangiopathie mit 38,5 % häufiger als bei Diabetikern ohne Mikroangiopathie (14,9 %; $\chi^2 = 3{,}79$; $p < 0{,}05$) und im Vergleichskollektiv (11,0 %; $\chi^2 = 9{,}02$; $p < 0{,}005$; $P_{corr.}$ n.s.) nachgewiesen worden. Die statistische Sicherung ist dabei jedoch nicht eindeutig möglich. Statistisch unsicher ist ebenso das gehäufte Vorkommen von

HLA-B18 in der Gruppe der Diabetiker, deren Diabetes mit mehr als 50 I.E. Insulin pro Tag eingestellt war (30,8 %) gegenüber dem Vergleichskollektiv (11,0 %; $\chi^2 = 8,78$; $p < 0,005$; $P_{corr.}$ n.s.) und den Diabetikern, die bis zu 40 I.E. Insulin pro Tag benötigten (9,8 %; $\chi^2 = 4,78$; $p < 0,05$). Diese Befunde bedürfen ebenso der kritischen Überprüfung wie die für HLA-Cw5 aufgestellten Ergebnisse.

7.2 HLA-System und Diabetes mellitus

Die oben diskutierten Zusammenhänge zwischen einzelnen HLA-Antigenen und dem insulinpflichtigen Diabetes mellitus dürfen nicht zu der Vorstellung führen, daß bestimmte HLA-Antigene direkt für die Entstehung des insulinpflichtigen Diabetes verantwortlich seien. Sie sind vielmehr als indirekte Marker für andere diabetogene Gene anzusehen, die ebenfalls auf dem Chromosom Nr. 6 in der Nähe der HLA-Genregion anzunehmen sind und die ihrerseits über die Krankheitsempfänglichkeit oder über bestimmte pathogenetische Funktionen entscheiden. Der Grad der Kopplung zwischen diesen Genen und einem HLA-Genort ist in Form des relativen Erkrankungsrisikos (RR) erfaßbar, das bei engster Kopplung, d. h. im konstruierten Fall der maximalen Nähe oder Identität der beiden Genorte, einen unendlich großen Zahlenwert ergibt ($RR \rightarrow \infty$). Der höchste derzeit bekannte Wert für das relative Erkrankungsrisiko beträgt für HLA-B27 beim Morbus Bechterew 81,0 (104). Das relative Erkrankungsrisiko bei B8-positiven insulinpflichtigen Diabetikern ist mit Werten zwischen 1,9 und 4,0 (in dieser Arbeit 2,55) vergleichsweise gering und verdeutlicht, daß die gesuchten Genorte recht weit vom HLA-B Locus entfernt sein müssen (vgl. Abb. 2, Seite 13). Die bei Diabetikern weitgehend normalen Frequenzen der Antigene des HLA-A Locus und die veränderten Häufigkeiten im Bereich des C-Locus weisen auf eine Lokalisation zentromerwärts von HLA-A hin. In der vorliegenden Arbeit ist das relative Erkrankungsrisiko für B8- und für

Cw5-positive Diabetiker im gesamten Patientenkollektiv (RR = 2,55 bzw. RR = 2,56) und bei vor dem 10. Lebensjahr erkrankten Diabetikern (RR = 3,04 bzw. RR = 2,99) ungefähr gleich groß, bei Ludwig et al. (64) für B8- (RR = 3,04) und für B15-positive Patienten (RR = 2,69) größer als für Cw3-positive Diabetiker. Cudworth et al. (33) haben für die Variante Bf^S des Faktors B (Bf), der ebenfalls in der Nähe des HLA-B Locus lokalisiert ist, mit RR = 2,23 bei insulinpflichtigen Diabetikern einen Wert in derselben Größenordnung ermittelt. Der auf der HLA-A und HLA-C abgewandten Seite des B-Locus gelegene HLA-D Locus fällt durch erhöhte Frequenzen von HLA-Dw3 und Dw4 mit eher stärkerer Assoziation auf (RR = 3,7 bzw. 4,9) (80). Damit könnten die hypothetischen Genorte zwischen HLA-B und HLA-D oder zentromerwärts von HLA-D anzunehmen sein. Die Untersuchung der serologisch erfaßbaren Antigene des HLA-Systems bei insulinpflichtigen Diabetikern kann nur bedingt zur Lokalisation der beim Menschen hypothetischen Krankheitsempfänglichkeits-(DS-) oder Immunantwort-(Ir)-gene beitragen. Die genetischen Zusammenhänge zwischen diesen Genorten und dem HLA-System müßten jedoch ausreichen, um genetisch unterschiedliche Formen des insulinpflichtigen Diabetes erkennen zu können. Dabei sind auch vergleichende Untersuchungen über die Assoziation des insulinpflichtigen Diabetes mit dem HLA-System bei Patienten unterschiedlicher rassischer Zugehörigkeit in Erwägung zu ziehen. Da die sogenannte rassische Variation des HLA-Systems nicht durch einen genetischen Unterschied sondern durch die für bestimmte geografische Regionen charakteristische Häufigkeitsverteilung bedingt ist, muß die in Japan und Europa verschiedene Assoziation zwischen insulinpflichtigem Diabetes mellitus und dem HLA-System (Japan HLA-Bw54 (57, 112); (Europa HLA-B8) eine besondere Erklärung finden. Bei dem in Europa und Japan gleichen Krankheitsbild "Diabetes mellitus" bestehen Zusammenhänge mit verschiedenen Immunantwort-(Ir-) oder Krankheitsempfänglichkeit auch an verschiedene auslösende Ursachen (Virus? chem. Agens?) Ende gleiche Krankheitsbild gebunden sein.

Es ist vorstellbar, daß in Japan ein anderer Umweltfaktor als in Europa an der Entstehung des Diabetes beteiligt ist. Solche möglichen Zusammenhänge ließen sich durch eine Bestimmung der HLA-Antigenfrequenzen bei in Westeuropa oder in den USA geborenen Diabetikerkindern japanischer Eltern klären.

Die HLA-Typisierungen einer großen Zahl insulinpflichtiger Diabetiker haben die Heterogenität des Krankheitsbildes wahrscheinlich gemacht. Durch spezielle Patientenauswahl und besondere Untersuchungsmethoden wird versucht, Patienten mit einer bestimmten Diabetesform zu erfassen. Geschlechtsverteilung, Alter zum Zeitpunkt der Manifestation, Erkrankungsmonat, Vorhandensein diabetischer Komplikationen, Nachweis von Inselzellantikörpern und Insulinantikörpern sind in verschiedenen Untersuchungen Auswahlkriterien gewesen und sind z. T. auch in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt worden.

Die Geschlechtsverteilung, die bei zwei verschiedenen Formen des insulinpflichtigen Diabetes unterschiedlich ist (17, 53), kann bei den hier untersuchten Patienten nicht ausgewertet werden, weil das Überwiegen der männlichen Diabetiker (n = 54) gegenüber den weiblichen (n = 26) durch die Aufnahmemöglichkeiten im Diabetikerheim "Witthoh" bedingt ist.

Eine Selektion hinsichtlich des Erkrankungsalters ist nicht gegeben, da die Laufzeit des Diabetes mellitus bei der Aufnahme der Kinder in das Heim nicht berücksichtigt wird und Kinder in jedem Lebensjahr bis zur Volljährigkeit aufgenommen werden. Die in der vorliegenden Arbeit getroffene Altersgruppierung unterscheidet sich von der Einteilung in anderen Untersuchungen und ist auf Seite 75 bereits begründet worden.

Mögliche Zusammenhänge zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem Alter zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation sind zuerst von Cudworth et al. (30) erwogen worden, in einer späteren umfassenderen Untersuchung (32) jedoch nicht bestätigt worden. Schernthaner et al. (64, 91) haben dieselbe Fragestellung aufgegriffen und konnten HLA-B8 dem kindlichen Diabetes (0 - 15 Jahre) und HLA-B8, B15 und Cw3 dem später aufgetretenen insulinpflichtigen Diabetes zuordnen. Neuere Einteilungen des Diabetes mellitus charakterisieren eine Diabetesform unter anderem durch das Erkrankungsalter 30 (17)bzw. 35 (53) Jahre, während eine andere seltenere Form des insulinpflichtigen Diabetes in jedem Lebensalter auftreten kann. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Zusammenhänge zwischen Erkrankungsalter und Diabetesform noch nicht sicher geklärt sind. Die Berücksichtigung eines Erkrankungsalters, in dem eine bestimmte Diabetesform ganz überwiegend auftritt, wie es in der vorliegenden Arbeit mit der Gruppe der zwischen 0 und 9 Jahren erkrankten Kinder versucht worden ist, kann jedoch zur Klärung der vielfältigen Assoziation zwischen dem Diabetes mellitus und dem HLA-System beitragen. In der hier ausgewählten Gruppe ist nur HLA-B8 sicher häufiger, die veränderten Frequenzen von HLA-B7 und Cw5 bedürfen der Überprüfung.

Andere, für die Einteilung des Diabetes mellitus hilfreiche Anhaltspunkte aus klinischer Sicht, wie das Vorhandensein einer diabetischen Mikroangiopathie und zur Diabeteseinstellung notwendige Insulinmengen, sind bereits im Zusammenhang mit den veränderten Frequenzen einzelner HLA-Antigene besprochen worden und haben einen Hinweis auf eine mögliche Fortführung der Untersuchungen gegeben. Die Auswertung von Angaben über familiäre Belastung, vor Erkrankungsbeginn durchgemachte Kinderkrankheiten, Neigung zu bakteriellen Infektionen sowie Art und Anzahl der verwendeten Insulinpräparationen ist ohne erkennbaren Sinnzusammenhang geblieben und ist wegen der Unsicherheit und Unvollständigkeit vieler anamnestischer Angaben nicht dargestellt worden.

Die Suche nach Beziehungen zwischen bestimmten HLA-Antigenen und dem Monat der Diabetesmanifestation soll abschließend erwähnt werden:
Gamble et al. (42) haben an einer größeren Anzahl von 0 - 19jährigen Diabetikern eine charakteristische jahreszeitliche Variation mit zunehmender Zahl der Erkrankungsfälle in den Wintermonaten berichtet, die in einem Zusammenhang mit der jahreszeitlichen Schwankung der Coxsackie B4-Virusinfektion gesehen werden kann. Diese charakteristische Verteilung der Erkrankungsfälle im Laufe des Jahres wird auch in dem hier untersuchten Patientengut gefunden. Der von Rolles et al. (87) festgestellte Zusammenhang zwischen der Manifestation des Diabetes in den Monaten Oktober bis Februar und HLA-B8 kann in der vorliegenden Arbeit, ebenso wie von Barbosa et al. (9), nicht bestätigt werden (siehe Tabelle 8). Die mit 57,7 % hohe Frequenz von HLA-B8 in den Monaten März bis September gegenüber 45,7 % in den Monaten Oktober bis Februar deutet vielmehr ein umgekehrtes Verhältnis an - ein Ergebnis, das jedoch eher zufällig ist.

Der durch die genetische (HLA-gekoppelte?) Empfänglichkeit gegenüber einer Virusinfektion des Inselzellapparates determinierten einen Form des insulinpflichtigen Diabetes mellitus steht eine andere Form gegenüber, die durch das Auftreten von Inselzellantikörpern charakterisiert ist (53). Nachdem im hier untersuchten Patientengut die Beziehung des Diabetes zur Virusinfektion unklar geblieben ist, könnte die Bestimmung der Inselzellantikörper bei diesen Patienten weiteren Aufschluß bringen. Von besonderem Interesse ist dabei die in der vorliegenden Arbeit erhöht gefundene Frequenz von HLA-Cw5, über die bisher nur von Irvine et al. (54) im Zusammenhang mit abfallenden Inselzellantikörpertitern in einer Verlaufsbeobachtung ohne ausreichende statistische Sicherung berichtet worden ist.

8. Zusammenfassung

Bei 80 insulinpflichtigen Diabetikern, die zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation zwischen 0 und 18 Jahren alt waren, wurden die HLA-Phänotypen bestimmt. Die Frequenzen der 38 getesteten HLA-Antigene wurden mit einer aus 347 Blutspendern bestehenden Kontrollgruppe verglichen.

Es wurde eine signifikante positive Assoziation zwischen dem insulinpflichtigen Diabetes mellitus und HLA-B8 nachgewiesen; das relative Erkrankungsrisiko betrug für B8-positive Patienten 2,55.

Auffällig war eine erhöhte Häufigkeit von HLA-Cw5, die bei Berücksichtigung des gesamten Patientenkollektivs nach Korrektur des p-Wertes statistisch nicht signifikant war. Die Untersuchung der HLA-Antigenfrequenzen bei vor dem 10. Lebensjahr erkrankten Patienten ergab für HLA Cw5 eine signifikante Frequenzerhöhung und ein relatives Erkrankungsrisiko von 2,99. Die vermehrte Häufigkeit von HLA-Cw5 fiel weiterhin auf bei in den Wintermonaten erkrankten Diabetikern und bei Patienten, deren Diabetes mit bis zu 40 I.E. Insulin pro Tag eingestellt war.

Die Frequenzen von HLA-B7, B15 und Cw3 wurden mit den Resultaten anderer Arbeitsgruppen verglichen. Bei 13 Patienten mit den manifesten Zeichen einer diabetischen Mikroangiopathie wurde eine erhöhte Frequenz von HLA-B18 gefunden.

Abschließend wurden unter Berücksichtigung der vorgelegten Ergebnisse allgemeine Zusammenhänge zwischen dem HLA-System und dem insulinpflichtigen Diabetes mellitus diskutiert.

9. Literaturverzeichnis

01. ALBERT, E.D.: The significance of HL-A-disease associations.
Z. Immun.-Forsch. 148, 382 - 383 (1975)

02. ALBERT, E.D.: Die klinische Bedeutung der Gewebsantigene (HL-A) des Menschen.
Münch. med. Wschr. 118, 619 - 624 (1976)

03. ALLEN jr. F.H.: Linkage of HL-A and GBG.
Vox Sang. 27, 382 - 384 (1974).

04. AMOS, D.B.: Human histocompatibility locus HL-A.
Science 159, 659 - 660 (1968)

05. AMOS, D.B., SEIGLER, H.F., SOUTHWORTH, J.G., WARD, F.E.: Skin graft rejection between subjects genotyped for HL-A.
Transplantn. Proc. 1, 342 - 346 (1969).

06. BACH, F.H., van ROOD, J.C.: The major histocompatibility complex - genetics and biology.
Third part. New Engl. J. Med. 295, 927 - 936 (1976).

07. BARBOSA, J.: HLA and diabetes mellitus.
Lancet I, 906 - 907 (1977)

08. BARBOSA, J., KING, R., GOETZ, F.C., NOREEN, H., YUNIS, E.J.: Histocompatibility antigens (HLA) in maturity-onset diabetes in the young.
Arch. Int. Med. (in press).

09. BARBOSA, J., NOREEN, H., GOETZ, F., SIMMONS, R., NAJARIAN, J., YUNIS, E.J.: Juvenile diabetes and viruses.
Lancet I, 371 (1976)

10. BARBOSA, J., NOREEN, H., EMME, L., GOETZ, F., SIMMONS, R., de LEIVA, A., NAJARIAN, J., YUNIS, E.J.: Histocompatibility (HLA) antigens and diabetic microantiopathiy.
Tissue Antigens 7, 233 - 237 (1976)

11. BARTA, L., SIMON, S.: Role of HLA-B8 and Bw15 antigens in diabetic children.
New Engl. J. Med. 296, 397 (1977)

12. BERTRAMS, J.: HLA-Antigene und Krankheitsempfänglichkeit.
Dtsch. med. Wschr. 101, 178 - 184 (1976)

13. BERTRAMS, J., GRÜNEKLEE, D.: Association between HLA-B7 and allergic reactions to insulin in insulindependent diabetes mellitus.
Tissue Antigens 10, 273 - 277 (1977)

14. BERTRAMS, J., THRAENERT, O., LUBOLDT, W., KUWERT, E.: Histokompatibilitäts-(HL-A-)Antigene bei 1 000 Blutspendern: Ein Beitrag zum Aufbau einer Thrombocyten-, Leukocyten- und Knochenmark-Spenderbank.
Z. Immun.-Forsch. 148, 73 - 91 (1974)

15. BERTRAMS, J., JANSEN , F.K., GRÜNEKLEE, D., REIS, H.E., DROST, H., BEYER, J., GRIES, F.A., KUWERT, E.: HLA antigens and immunoresponsiveness to insulin in insulin-dependent diabetes mellitus.
Tissue Antigens 8, 13 - 19 (1976)

16. BODMER, W.F.: Discussion.
Transplantn. Proc. 3, 1 294 (1971)

17. BOTTAZZO, G.F., DONIACH, D.: Pancreatic autoimmunity and HLA antigens.
Lancet II, 800 (1976)

18. BOTTAZZO, G.F., DONIACH, D., POUPLARD, A.: Humoral autoimmunity in diabetes mellitus. Acta Endocrinol. 83, suppl. 205 55 - 61 (1976)

19. BRAND, D.L., RAY jr., J. G., HARE, D.B., KAYHOE, D.E., Mc Clelland, J. D.: Preliminary trials toward standardisation of leukocyte typing. Histocompatibility
Testing 1970, 357 - 367 Copenhagen: Munksgaard (1970)

20. BROCKMÜLLER, K.D.: Zusammenhänge zwischen Krankheiten und dem ABO-Blutgruppensystem.
Inaug. Diss., Med. Fak. Tbg. (1962).

21. BRUNNER, B.: Nachweis und Bedeutung von HL-A Antikörpern bei Schwangeren.
Inaug. Diss., Med. Fak., Tübingen (1974)

22. CATHELINEAU, G., CATHELINEAU, L., HORS, J., SCHMID, M., Dausset, J.: Les groupes HLA dans le diabète à début précoce.
Nouv. Presse Med. 5, 586 (1976)

23. CEPPELLINI, R.: Old and new facts and speculations about transplantation antigens of man.
Progr. Immunol. 1, 973 - 1 025 (1971)

24. CEPPELLINI, R., MATTIUZ, P.L., SCUDELLER, G., VISETTI,M.: Experimental allotransplantation in man.
1. The role of the HL-A system in different genetic combinations.
Transplantn. Proc. 1, 385 - 389 (1969).

25. CHRISTY, M., NERUP, J., BOTTAZZO, G.F., DONIACH, D., PLATZ, P., SVEJGAARD, A., RYDER, L.P., THOMSEN, M.: Association between HLA-B8 and autoimmunity in juvenile diabetes mellitus.
Lancet II, 142 - 143 (1976)

26. CONTU, L., PULIGHEDDU, A., MURA, C., GABBAS, A.: HLA antigens in Sardinian patients with diabetes mellitus. Abstr. of the First International Symposium on HLA and Disease, Paris (1976).

27. CRAIGHEAD, J.E., Mc LANE, M.F.: Diabetes mellitus: Induction in mice by encephalomyocarditis virus, Science 162, 913 - 914 (1968)

28. CUDWORTH, A.G., WOODROW, J. C.: HL-A antigens and diabetes mellitus.
Lancet II, 1153 (1974)

29. CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C.: HL-A system and diabetes mellitus.
Diabetes 24, 345 - 349 (1975)

30. CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C.: Evidence for HL-A-linked genes in "juvenile" diabetes mellitus.
Brit. Med. J. III, 133 - 135 (1975)

31. CUDWORTH, A. G., WOODROW, J.C.: Genetic susceptibility in Type I (insulin-dependent) diabetes.
Abstr. of the 12th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Helsinki, Sept. 1976.
Diabetologia 12, 386 (1976)

32. CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C.: Genetic susceptibility in diabetes mellitus: analysis of the HLA association.
Brit. Med. J. II, 846 - 848 (1976)

33. CUDWORTH, A.G., USHER, N., WOODROW, C.: Factor B phenotypes in 'juvenile-onset' diabetes.
Abstract.
Diabetologia 13, 388 (1977)

34. DAUSSET, J.: Leuco-agglutinins. IV. Leuco-agglutinins and blood transfusion.
Vox. Sang. 4, 190 - 198 (1954)

35. DAUSSET, J.: Iso-leuco-anticorps.
Acta haemat. 20, 156 - 166 (1958)

36. DEVLIN, J.G., PARAMESWARAN, V.: Antigenicity of monocomponent insulin.
Lancet I, 865 (1975)

37. EGEBERG, J., FRIMODT-MÖLLER, K., SANDER, E., SVEJGAARD, A.: Basement membrane thickness, insulin antibodies and HLA antigens in juvenile diabetics with and without proliferative retinopathy. Abstract.
Diabetologia 13, 391 (1977)

38. FALSCHUK, Z. M., ROGENTINE, G.N., STROBER, W.: Predominance of histocompatibility antigen HL-A 8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. Journ. Clin. Invest. 51, 1 602 - 1 605 (1972)

39. FINKELSTEIN, S., ZELLER, E., WALFORD, R.L.: No relation between HL-A and juvenile diabetes. Tissue Antigens 2, 74 - 77 (1972)

40. FLIER, J.S., KAHN, C.R., ROTH, J., BAR, R.S.: Antibodies that impair insulin receptor binding in an unusual diabetic syndrome with severe insulin resistance. Science 190, 63 - 65 (1975)

41. FROESCH, E.R.: Die Pathogenese des Diabetes mellitus - genetische und exogene Faktoren. Therapeutische Berichte 46, 3 - 12 (1974)

42. GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W.: Seasonal incidence of diabetes mellitus. Brit. Med.J. III, 631 - 633 (1969)

43. GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W.: Epidemiological background to diabetes. Acta Enocrinol. 83, suppl. 205, 161 - 165 (1976)

44. GAZIT, E., SARTANI, A., MIZRACHI, Y., RAVID, M.: HLA antigen in Jewish patients with juvenile diabetes mellitus. Diabete Metab. 3, 55 - 59 (1977)

45. GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen. Red. K. Diem und C. Leutner. 7. Aufl. Basel: J.R. Geigy AG (1969)

46. GEPTS, W.: Islet changes suggesting a possible immune aetiology of human diabetes mellitus. Acta Endocrinol. 83, suppl. 205, 95 - 104 (1976)

47. GERSHWIN, M.E., TERASSAKI, P.J., GRAW, R., CHUSED, T.M.: Increased frequency of HL-A 8 in Sjøgren's syndrome. Tissue Antigens 6, 342 - 346 (1975)

48. GRÜNEKLEE, D., BERTRAMS, J., CICMIR, I.: Frequency of HLA-antigens in insulin dependent diabetics with "insulin allergy". Abstr. of the 12th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Helsinki. Diabetologia 12, 394 (1976)

49. HAUG, H.: Untersuchungen über die Persistenz cytotoxischer HLA-Antikörper bei Schwangeren. Inaug. Diss. Med. Fak. Tübingen (im Druck)

50. HUNGERLAND, H., MÖLLERING, M.: Der kindliche Diabetes. In: Handbuch der Inneren Medizin, Bd. 7, Teil 2 A. 5. Auflage, Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1975)

51. ILLENI, M.T., PELLEGRIS, G., del GUERCIO, M.J., TARANTINO, A., BUSETTO, F., di PIETRO, C., CLERICI, E., GAROTTA, G., CHIUMELLO, G.: Sistema HLA e anticorpi anti-pancreas nel diabete mellito infantile. Symposion on Recent Progress in Pediatric Endocrinology, Mailand 30.09.76 - 02.10.76. Abstract. (1976)

52. INTERNATIONAL Histocompatibility Worksshop, Nomenclature Committee: Nomenclature of HLA specifities. Oxfort (1977)

53. IRVINE, W.J.: Classification of idiopathic diabetes. Lancet I, 638 - 642 (1977)

54. IRVINE, W.J., Mc CALLUM, C.J., GRAY, R.S., CAMPBELL, C.J., DUNCAN, L.J.P., FARQUHAR, J.W., VAUGHAN,H., MORRIS, P.J.: Pancreatic islet-cell antibodies in diabetes mellitus correlated with the duration and type of diabetes, coexistent autoimmune disease and HLA type. Diabetes 26, 138 - 147 (1977)

55. IVANYI, D., DOSTAL, C., MRKLAS, L.: HLA-B8 in systemic lupus erythematodes.
Tissue Antigens 8, 91 - 93 (1976)

56. JÖRGENSEN,G.: Genetik des Diabetes mellitus.
Therapiewoche 20, 1 476 - 1 483 (1970)

56 a. JOSLIN, E.P., ROOT, H.F., WHITE, P., MARBLE, A.: Age and changinge incidence of diabetes and diabetic mortality. In: The treatment of diabetes mellitus.
10. Aufl., 27 - 33. Philadelphia: Lea and Febiger (1959)

57. KAWA, A., NAKAZAWA, M., SAKAGUCHI, S., NAKAMURA, S., KONO, Y., HAZAKI, H., KANEHISA, T.: HLA system in Japanese patients with diabetes mellitus.
Diabetes 26, 591 - 595 (1977)

58. LAMM, L.U., THORSEN, I.L., PETERSEN, G.B., JØRGENSEN, J., HENNINGSEN, K., BECH, B., KISSMEYER-NIELSEN, F.: Data of the HL-A linkage group.
Ann. Hum. Genet. 38, 383 - 390 (1975)

59. LANDGRAF, R., LANDER, T., LANDGRAF-LEURS, M.M.C., SCHOLZ, S., ALBERT, E.D.: Glucose tolerance, insulin release and HLA-typing in relatives of juvenile diabetics. Abstr. of the 12th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Helsinki.
Diabetologia 12, 404 (1976)

60. LENDRUM, R., WALKER, G., CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C., GAMBLE, D.R.: HLA-linked genes and islet-cell antibodies in diabetes mellitus.
Brit. Med. J. I, 1 565 - 1 567, (1976)

61. LUDVIGSSON, J., SÄFWENBERG, J., HEDING, L.G.: HLA-types, C-peptide and insulinantibodies in juvenile diabetes.
Diabetologia 13, 13 - 17 (1977)

62. LUDWIG, H., MAYR, W.R., SCHERNTHANER, G.: Glucose-tolerance tests in HL-A-typed relatives of patients with juvenile onset diabetes mellitus. Lancet II, 1 152 - 1.153 (1975)

63. LUDWIG, H., SCHERNTHANER, G., MAYR, W.R.: Is HLA-B7 a marker associated with a protective gene in juvenile-onset diabetes mellitus? New Engl. J. Med. 294, 1 066 (1976)

64. LUDWIG, H., SCHERNTHANER G., MAYR, W.R.: The importance of HLA genes to susceptibility in the development of juvenile diabetes mellitus. A study of 93 patients and 68 first degree blood relations. Diabete Metab. 3, 43 - 49 (1977)

65. LUDWIG, H., EIBL, M., SCHERNTHANER, G., ERD, W., MAYR, W.R.: Humoral immunodeficiency to bacterial antigens in patients with juvenile onset diabetes mellitus, Diabetologia 12, 259 - 262 (1976)

66. MARSHALL, J.V.: The Bg antigens and antibodies. Can. J. Med. Techn. 35, 26 - 35 (1973)

67. MAUGH II, T.H.: Diabetes: Epidemiology suggests a viral connection. Science 188, 347 - 351 (1975)

68. MAYR, W.R.: Leukocytäre Isoantigene des Menschen mit ausführlicher Beschreibung des HL-A-Systems. Fortschritte der Hämatologie, Bd 3, 17 - 62. Leipzig: Joh. Ambr. Barth (1974)

69. MAYR, W.R.: The SD-3 locus of the HL-A system with special reference to T5. Histocompatibility Testing 1975, Copenhagen: Munksgaard (1975)

70. MAYR, W.R.: Der HLA Genkomplex. Vortrag auf dem Kongress der Dtsch. Ges. f. Bluttransfusion und Immunhämatologie, Frankfurt (1976) Zit. n. Haug, H.: (26)

71. MAYR, W.R., SCHERNTHANER, G., LUDWIG, H.: Intra-HLA recombination frequency in juvenile diabetes.
Lancet I, 865 (1976)

72. Mc DEVITT, H.O., BODMER, W.F.: HL-A, immune-response genes and disease.
Lancet I, 1 269 - 1 275 (1974)

73. MEHNERT, H.: Vortrag auf einer Fortbildungsveranstaltung der Firma Hoechst am 17.03.77 in Stuttgart.

74. MIROUZE J., SEIGNALET, J., SELAM, J.-L., LAPINSKI, H., JAFFIOL, C.: Antigenes HLA chez les diabétiques insulino-dépendants.
Nouv. Presse Med. 5, 1 628 - 1 630 (1976)

75. MITTAL, K.K.: The HLA polymorphism and susceptibility to disease.
Vox Sang. 31, 161 - 173 (1976)

76. MORRIS, P.J., VAUGHAN, H., IRVINE, W.J., Mc CALLUM, F.J., GRAY, R.S., CAMPBELL, C.J., DUNCAN, L.J.P., FARQUHAR, J.W.: HLA and pancreatic islet cell antibodies in diabetes.
Lancet II, 652 - 654 (1976)

77. NELSON, P.G., PYKE, D.A.: Genetic diabetes not linket to the HLA locus.
Brit. Med. J. I, 196 - 197 (1976)

78. NELSON, P.G., PYKE, D.A., CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C., BATCHELOR, J.R.: Histocompatibility antigens in diabetic identical twins.
Lancet II, 193 - 194 (1975)

79. NERUP, J., ORTVED ANDERSEN, O., CHRISTY, M., PLATZ, P., RYDER, L., THOMSEN, M., SVEJGAARD, A.: HLA, autoimmunity and the pathogenesis of juvenile diabetes mellitus.
Acta Endocrinol. 83, suppl. 205, 167 - 173 (19

80. NERUP, J., ORTVED ANDERSEN, O., BUSCHARD, K., CHRISTAU, B., CHRISTY, M., KRONMANN, H., PLATZ, P., RYDER, L., SVEJGAARD, A., THOMSEN, M.: HLA-D typing in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). Abstract. Acta Endocrinol. 85, suppl. 209, 48 (1977)

81. NERUP, J., PLATZ, P., ORTVED ANDERSEN, O., CHRISTY, M., LYNGSØE, J., POULSEN, J.E., RYDER, L.P., STAUB NIELSEN, L., THOMSEN, M., SVEJGAARD, A.: HL-A antigens and diabetes mellitus. Lancet II, 864 - 866 (1974)

82. NIETHAMMER, D., LOHRMANN, H.-P.: Knochenmarktransplantation zur Therapie schwerer Panmyelopathien. Dtsch. Ärztebl. 74, 1 127 - 1 133 (1977)

83. NORDHAGEN, R.: Association between HLA and red cell antigens. Vox Sang. 32, 82 - 89 (1977)

84. PATEL, R., ANSARI, A., COVARRUBIAS, C.: Leukocyte antigens and disease: III. Association of HLA-B8 and HLA-B15 with insulin-dependent diabetes in three different population groups. Metabolism. 26, 487 - 492 (1977)

85. PETRIDES, P., WEISS, L., LÖFFLER, G., WIELAND, O.: Diabetes mellitus. 1. Auflage. München, Berlin, Wien: Urban und Schwarzenberg (1971)

86. RIMOIN, D.L.: Inheritance in diabetes mellitus. Med. Clin. North Am. 55, 807 - 819 (1971)

87. ROLLES, C.J., RAYNER, P.H.W., MACKINTOSH, P.: Aetiology of juvenile diabetes. Lancet II, 230 (1975)

88. RUBINSTEIN, P., SUCIU-FOCA, N., NICHOLSON, J.F., FOTINO, M., MOLINARO, A., HARISIADIS, L., HARDY, M.A., REEMTSMA, K., ALLEN jr. F.H.: The HLA system in the families of patients with juvenile diabetes mellitus. J. Exp. Med. 143, 1 277 - 1 282 (1976)

89. RYDER, L.P., STAUB NIELSEN, L., SVEJGAARD, A.: Associations between HL-A histocompatibility antigens and non-malignant diseases. Humangenetik 25, 251 - 264 (1974)

90. SCHALLER, J.G., OMENN, G.S.: The histocompatibility system and human disease. J. Ped. 88, 913 - 925 (1976)

91. SCHERNTHANER, G., LUDWIG, H., MAYR, W.R.: Juvenile diabetes mellitus: HLA-antigen frequencies dependent on the age of onset of the disease. J. Immunogen. 3, 117 - 121 (1976)

92. SCHERNTHANER, G., LUDWIG, H., MAYR, W.R., WILLVONSEDER, R.: Genetic factors on insulin antibodies in juvenile-onset diabetes. New. Engl. J. Med. 295, 622 (1976)

93. SCHERNTHANER, G., MAYR, W.R., PACHER, M., LUDWIG, H., ERD, W., EIBL, M.: HL-A8, W15 and T3 in juvenile onset diabetes mellitus. Horm. Metab. Res. 7, 521 - 522 (1975)

94. SCHLOSSTEIN, L., TERASSAKI, P.I., BLUESTONE,R., PEARSON, C.M.: High association of an HL-A antigen, W 27, with ankylosing spondylitis. New Engl. J. Med. 288, 704 - 706 (1973)

95. SCHNEIDER, W., BRUNNER, B.: Das HL-A-System und seine klinische Bedeutung. Pharmazie in unserer Zeit 4, 10 - 16 (1975)

96. SHAW, J.F., KANSAL, P.C., GATTI, R.A.: Diabetes mellitus, chromosomal aberration, and malignancy. Lancet II, 315 (1976)

97. SINGAL, D.P., BLAJCHMANN, M.A.: Histocompatibility (HL-A) antigens, lymphocytotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus. Diabetes 22, 429 - 432 (1973)

98. SIPERSTEIN, M.D., UNGER, R.H., MADISON, L.L.: Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients.
J. Clin. Invest. 47, 1 973 - 1 999 (1968)

99. STEINKE, J., TAYLOR, K.W.: Viruses and the etiology of diabetes.
Diabetes 23, 631 - 633 (1974)

100. STROSSBERG, J. M., HARRIS jr. E.D.: HL-A genotypes and diabetes.
Lancet II, 1 212 (1974)

100 a. STRUWE, F.E.: Zur Früherkennung des Diabetes mellitus bei Kindern und Jugendlichen.
Mschr. Kinderheilk. 121, 477 - 479 (1973)

100 b. STRUWE F.E.: Diabetes mellitus im 2. Lebensjahrzehnt.
Mschr. f. Kinderheilk. 123, 352 - 353 (1975)

100 c. STRUWE, F.E.: Mündliche Mitteilung

101. SUCIU-FOCA, N., RUBINSTEIN, P.: Intra-HLA recombinations in juvenile diabetes mellitus.
Lancet I, 371 - 372 (1976)

102. SVEJGAARD, A.: HLA factors and immune function.
Acta Endocrinol. 83, suppl. 205, 77 - 83 (1976)

103. SVEJGAARD, A., PLATZ, P., RYDER, L.P., STAUB NIELSEN, L., THOMSEN, M.: HL-A and disease associations - a survey.
Transplant. Rev. 22, 3 - 43 (1975)

104. SVEJGAARD, A., HAUGE M., JERSILD, C.,PLATZ, P., RYDER, L. P., STAUB NIELSEN, L., THOMSEN, M.: The HLA system: An introductory survey. Monographs in Human Genetics, Vol. 7. Basel, New York: S. Karger (1975)

105. TATTERSALL, R.B., PYKE, D.A.: Diabetes in identical twins.
Lancet II, 1 120 - 1 125 (1972)

106. TEISBERG, P., OLAISEN, B., GEDDE-DAHL, T., THORSBY, Jr. and E.: On the localisation of the Gb locus within the MHS region of chromosome no. 6. Tissue Antigens 5, 257 - 261 (1975)

107. TERASSAKI, P.J., Mc CLELLAND, J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature 204, 998 - 1 000 (1964)

108. THOMSEN, M., PLATZ, P., ORTVED ANDERSEN, O., CHRISTY, M., LYNGSOE, J., NERUP, J., RASMUSSEN, K., RYDER, L.P., STAUB NIELSEN, L., SVEJGAARD, A.: MLC typing in juvenile diabetes mellitus and idiopathic Addison's disease. Transplant. Rev. 22, 125 - 147 (1975)

109. THORSBY, E., LIE, S.O.: Relationship between the HL-A-system and susceptibility to diseases. Transplantn. Proc. 3, 1 305 - 1 307 (1971)

110. THORSBY, E., HIRSCHBERG, H., HELGESEN, A.: A second locus determining human MLC response. Transplantn. Proc. 5, 1 523 - 1 528 (1973)

111. WAERDEN, B.L. van der: Mathematische Statistik. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer (1957)

112. WAKISAKA, A., AIZAWA, M., MATSUURA, N., NAKAGAWA, S., NAKAYAMA, E., ITAKURA, K., OKUNO, A., WAGATSUMA, Y.: HLA and juvenile diabetes mellitus in the Japanese. Lancet II, 970 (1976).

113. WHO: Diabetes mellitus. Report of a WHO expert committee. Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser., 310 - 313 (1965)

114. WHO: Nomenclature for factors of the HL-A system. Bull. Wld. Hlth. Org. 39, 483 - 486 (1968)

115. WHO: Nomenclature for factors of the HL-A system. Histocompatibility Testing 1975, 5 - 12. Copenhagen: Munksgaard (1975)

116. WHITE, S.H., NEWCOMER, V.D., MICKEY, M.R., TERASSAKI, P.J.: Disturbance of HL-A antigen frequency in psoriasis.
New Engl. J. Med. 287, 740 - 744 (1972)

Lebenslauf

Am 20. Januar 1950 wurde ich, Jörg-Elard Otten, als Sohn des Zahnarztes Dr. med. dent. Albert Otten und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Hügel, in Bremen geboren.
Ostern 1956 wurde ich eingeschult, am 13.05.68 bestand ich nach 13 Schuljahren die Reifeprüfung am Gymnasium an der Hermann-Böse-Straße in Bremen. Bis zur Zulassung zum Studium arbeitete ich mehrere Monate als Krankenpflegehelfer in einer chirurgischen Klinik und anschließend als Volontär in einem zahntechnischen Laboratorium.

Vom Sommersemester 1969 bis zum Sommersemester 1974 studierte ich Zahnheilkunde in Freiburg, seit dem Wintersemester 1971/72 war ich zusätzlich zum Medizinstudium zugelassen. Das zahnärztliche Staatsexamen bestand ich am 01.07.74 in Freiburg. Anschließend setzte ich das Medizinstudium in Tübingen fort. Dort bestand ich das ärztliche Staatsexamen am 08.07.76.

Während des Studiums leistete ich meine Famulaturen auf den Gebieten der Chirurgie, der Anästhesie sowie der Kiefer- und Gesichtschirurgie in Bremen ab.
Zum Doktor der Zahnheilkunde promovierte ich mit einer Arbeit aus der Blutgruppenserologie am 04.09.75 in Tübingen.

Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich bisher vom 01.09.76 bis zum 31.12.76 in der Abteilung für das Transfusionswesen (Professor Dr. W. Schneider) vom 01.02.77 bis zum 31.05.77 im Institut für Anästhesiologie (Professor Dr. R. Schorer) sowie vom 01.06.77 bis zum 30.09.77 in der Chirurgischen Universitäts-Klinik (Professor Dr. L. Koslowski) der Universität Tübingen.

Nach Abschluß der Medizinalassistentenzeit im Kreiskrankenhaus Norden (Ostfriesland) strebe ich die kieferchirurgische Facharztausbildung an.